

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem,
Abt. M. HARTMANN.)

VITALE KERNFÄRBUNGEN BEI STENOBOTHRUS.

Von

ILSE FISCHER.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. März 1939.)

I. Einleitung.

Die Kerne lebender, ungeschädigter Zellen sind unter normalen Außenbedingungen, also im Tier, in der Gewebekultur oder in „physiologischen Salzlösungen“ nicht vital färbbar. Erst nach Einwirkung verschiedener chemischer Stoffe oder unter besonderen äußeren oder inneren Bedingungen dringen Vitalfarbstoffe in den Kern lebender Zellen ein, so bei Sauerstoffmangel, worauf bereits D. NASSONOW (1930) hinwies. Von verschiedenen Autoren wurde seither immer wieder über Möglichkeiten vitaler Kernfärbungen an tierischen Zellen berichtet. Es handelte sich indessen meist nur um gelegentliche Beobachtungen oder um Untersuchungen, die ohne Zusammenhang mit einem besonderen cytologischen Problem vorwiegend technische Ziele verfolgten. Sie ließen daher selten bestimmte Schlüsse über die Bedingungen der vitalen Kernfärbung zu wie die Arbeiten von NASSONOW, ALEXANDROW und einiger anderer.

Zu einer kolloidchemisch begründeten Vorstellung über das Wesen der vitalen Kernfärbung führten nun Untersuchungen von E. RIES (1937) an der Epidermis junger Axolotllarven: Unter normalen Bedingungen sind die weitgehend dispergierten sauren Kerneiwieße gegen die polare Adsorption basischer Farbstoffe durch ihren Solvatmantel (Hydratationswasser) geschützt. Nach Dispersitätsverminderung und Dehydratation werden die vorher optisch homogenen Kerne zunächst reversibel entmischt, die Kernstrukturen heben sich durch stärkere Lichtbrechung deutlich vom Kernsaft ab und werden zugleich vital färbbar. Modellversuche an auspipettiertem Hühnereiweiß ergaben weitere Anhaltspunkte für diese Erklärung. Substanzen, die in lebenden Zellen Entmischung und Kernfärbung hervorriefen, bewirkten auch an Eiweißtropfen Fällung und Farbstoffabsorption in saurem Farbton wie in der Zelle. Einwirkung von Stoffen, die den Zelltod zur Folge hatte, ohne daß dabei eine Kernfärbung eintrat, führten im Eiweißtropfen auch stets nur zu einer Diffusfärbung im alkalischen Farbton.

Neuerdings hat nun auch O. BANK (1938) an pflanzlichen Zellen, den Epidermiszellen von *Allium cepa*, mit Hilfe von Dehydratationsmitteln (Alkohol, Äther, Chloroform, Anilin) vitale Kernfärbungen erzielt. BANK betont, daß die Kerne von *Allium cepa* optisch völlig leer seien und eine Vitalfärbung der Kerne immer erst nach ihrer „mikroskopischen Differenzierung“ eintritt. Aus dem zeitlichen Zusammenfallen von Kernentmischung und Speicherung von Farbstoffen an den Kernstrukturen hat BANK dann direkt auf eine kausale Verknüpfung dieser Erscheinungen geschlossen. Die optische Differenzierung der Kerne soll die Hauptbedingung für die Speicherung von Vitalfarbstoffen im Kern sein: „Es scheint somit in allgemeiner Gültigkeit zu folgern, daß es zur Erzielung einer Vitalfärbung notwendig ist, daß die zu färbende Zellorganelle vor allem morphologisch und damit in vielen anderen Einzelheiten differenziert sei.“

Wäre diese Vermutung richtig, so müßte man erwarten, daß Kerne, die unter normalen „Außenbedingungen“ sichtbar sind, unter diesen Bedingungen auch ohne weiteres vital färbbar seien. Wir kennen nun eine Reihe von Objekten, bei denen die Kerne in der lebenden Zelle sichtbar sind, so z. B. die Kerne der Spermatogonien und Spermatozyten verschiedener Heuschrecken (BĚLAŘ, 1929), die Speicheldrüsenkerne einiger Dipteren (BAUER, 1935), manche Protistenkerne (PROWAZEK, BĚLAŘ, 1926). Diese Kerne sind aber in physiologischen Salzlösungen nicht vital färbbar, obgleich ihre Strukturen in allen Einzelheiten zu erkennen sind.

Da mit der Erscheinung der vitalen Kernfärbung die Sichtbarkeit der Chromatinstrukturen verknüpft worden ist, erscheint es nötig, in diesem Zusammenhang zunächst einmal die Frage nach der Struktur des lebenden Zellkernes zu erörtern. Die Ansichten der Autoren gehen hinsichtlich der Sichtbarkeit der Kernstrukturen in der ungeschädigten lebenden Zelle mitunter recht auseinander, teilweise liegen sogar für dasselbe Objekt einander widersprechende Beobachtungen vor. So enthalten z. B. die Epidermiszellen von *Allium cepa*, die BANK stets optisch leer fand, nach W. A. BECKER intra vitam deutlich sichtbare Kerne.

Manche Autoren (z. B. ZEIGER, 1938) möchten nun die Sichtbarkeit von Kernstrukturen im allgemeinen auf irgendeine Zellschädigung zurückführen, zum mindesten soll das Kerngerüst während der Teilungsrube der Zelle unsichtbar sein (von TELLYESNICZKY, W. H. und M. LEWIS, CHAMBERS 1924, SCHAEDE 1929). Aus der im Hell- und Dunkelfeld beobachteten optischen Homogenität des Kernraumes haben LEWIS und CHAMBERS sogar auf eine wirkliche Homogenität des Kerninhaltes geschlossen. Dagegen konnten jedoch VAN HERWERDEN und ZEIGER durch Entmischungsversuche im lebenden Kern stabile „Orte charakteristischer Inhomogenitäten“ nachweisen, die unter bestimmten „anormalen Zuständen“ eine reversible Strukturbildung in mikroskopisch homogenen Kernen ermöglichen, welche aber als „Vitalartefakt“ bewertet wird.

Es hat den Anschein, als ob von Seiten mancher Histologen Beobachtungen an bestimmten Gewebetypen, insbesondere an Geweben von Wirbeltieren, zu sehr verallgemeinert worden sind. In den Spermatogonien und Spermatozyten der Heuschrecke *Stenobothrus lineatus* sind die Kernstrukturen sicher in ungeschädigten Zellen zu erkennen: BĚLAŘ (1929) beobachtete, wie diese Zellen 12 Stunden nach Explantation in RINGER-Lösung sich noch teilten. Auf seinen Mikrophotographien sind auf diesen wie jüngeren Explantationsstadien die Kernstrukturen in allen Einzelheiten deutlich sichtbar. Bei den Heuschrecken *Dissosteira*, *Trimerotropis* und *Melanoplus* stellte BĚLAŘ dagegen fest, daß die Spermatozytenkerne vom Beginn der Konjugationsphase bis zur Diakinese kaum zu erkennen sind; die Spermatozytenkerne von *Dissosteira carolina* endlich sind normalerweise völlig optisch homogen (CHAMBERS, 1924; BĚLAŘ, 1930).

Diese Beobachtungen deuten darauf hin, daß hinsichtlich der optischen Differenzierung lebender Zellkerne offenbar auch bei nahe verwandten Tierformen ganz verschiedene Verhältnisse vorliegen. Es ist daher kaum wahrscheinlich, daß, sofern in einem lebenden Gewebe regelmäßig die Kerne zu erkennen sind, dies auf „Zellschädigung“ zurückgeführt werden könnte.

Aus diesen Erwägungen ergaben sich im Hinblick auf das Problem der vitalen Kernfärbung folgende Fragen:

1. Ist die mikroskopische Sichtbarkeit der Kernstrukturen immer auf eine „Zellschädigung“ zurückzuführen? (Eine leichte schädigende

Wirkung könnte vielleicht durch zu starke Belichtung während der Beobachtung ausgelöst werden.)

2. Gibt es eine Erklärung dafür, daß die Kernstrukturen in lebenden Zellen teils sichtbar, teils unsichtbar sind?

3. Unter welchen Bedingungen ist eine Vitalfärbung der im Leben normalerweise sichtbaren Kerne möglich, und warum speichern sie nicht ohne weiteres Vitalfarbstoffe?

Explantationsversuche mit dem Follikel epithel und Hodengewebe von *Stenobothrus lineatus* boten Gelegenheit zu Beobachtungen, die zur Klärung dieser Fragen einige Anhaltspunkte ergeben.

II. Material und Technik.

Eiröhren und Hodengewebe von *Stenobothrus lineatus* wurde in TYRODE-Lösung (in der für Säugetiere gebrauchten Zusammensetzung, die nach BÉLAË [1929] auch für die Gewebe von *Stenobothrus* isotonisch ist [$p_H = 7,4$]), im hängenden Tropfen oder in hohlgeschliffenen Objektträgern, die ganz mit dem Medium gefüllt worden waren, explantiert. Als Farbstoff diente in erster Linie Neutralrot in 0,001–0,1%igen Lösungen. Ferner wurden auch Versuche mit sauren Farbstoffen, z. B. mit Trypanblau und Eosin angesetzt. Außerdem wurden Färbungsversuche mit reduzierten Farbstoffen, den Leukobasen des Thionins und des Methylenblaus vorgenommen. Schließlich wurde auch noch besonders das Verhalten der Zellen bei Färbung mit Janusgrün beobachtet.

Um eine Schädigung der Zellen durch starke Belichtung während der Beobachtung zu vermeiden, wurde stets auch eine entsprechende Versuchsreihe angesetzt, die nur bei Tageslicht beobachtet wurde.

Vor allem wurde der Einfluß dehydratisierender Mittel wie Alkohol, Anilin, Chloroform, Aceton, Äther, in 0,1–1%igen Lösungen auf das Färbungsergebnis geprüft. Ferner wurde die Einwirkung entquellender Salze wie $MgSO_4$, $CaCl_2$, die in 2–20%igen Lösungen zur Anwendung gelangten, beobachtet. Die dehydratisierenden Mittel wurden entweder vor der Färbung der TYRODE-Lösung zugesetzt oder direkt zur Farblösung hinzugegeben. Sofern es sich dabei um Stoffe handelte, die mit Bicarbonaten oder Phosphaten reagieren, diente als Untersuchungsmedium RINGER-Lösung ohne Bicarbonat ($p_H = 4,6$).

Im Kontrollversuch war das Färbungsergebnis stets dasselbe, gleichgültig, ob aus der alkalischen TYRODE- oder der sauren RINGER-Lösung gefärbt wurde. Nur ergab sich in alkalischem Medium mit geringeren Farbstoffkonzentrationen in kürzerer Zeit eine intensivere Anfärbung, als wenn die entsprechenden Farblösungen in der sauren RINGER-Lösung angewandt wurden.

Untersucht wurde ferner, inwiefern Hypo- oder Hypertonie des Mediums das Färbungsergebnis und das mikroskopische Bild des Kernes zu verändern vermögen.

Schließlich wurde die Einwirkung verdünnter Säuren (Essigsäure in 0,005 bis 0,1%iger, HCl in 0,003–0,3%iger Lösung) von CO_2 (Beobachtung und Färbung in bicarbonatfreier mit CO_2 gesättigter RINGER-Lösung) und von Sauerstoffmangel beobachtet¹.

¹ Da die Verwendung verschiedener basischer Farbstoffe und verschiedener Dehydrationsmittel keine spezifische Wirkung der verschiedenen Farbstoffe und Dehydrationsmittel erkennen ließ und das Färbungsergebnis grundsätzlich stets das gleiche war, werden im folgenden nur die Färbungen mit Neutralrot näher beschrieben. Von den Dehydrationsmitteln wird vor allem das Anilin und das Aceton berücksichtigt.

III. Befunde.

1. Vitalfärbung mit Neutralrot unter normalen Außenbedingungen.

Die panoistischen Eiröhren von *Stenobothrus* sind von stark abgeflachten Hüllzellen überzogen, die als lockeres Netz die Follikel umspannen. Diese Zellen sind ohne Anfärbung kaum zu erkennen. Das

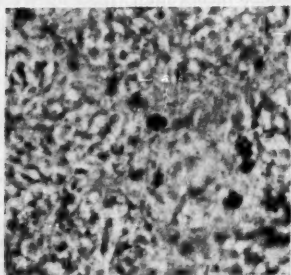


Abb. 1. In isotonischer Tyrodelösung mit Neutralrot vitalgefärbte Follikelepithelzellen. Die Chromosomen sind sowohl in den Teilungs- als auch in den Ruhezellen sichtbar, sie sind aber völlig ungefärbt. Lebend photographiert.

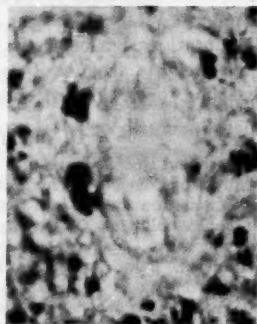
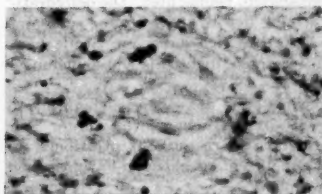
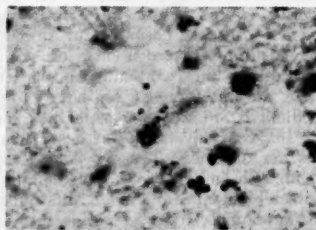


Abb. 2. Unter normalen Bedingungen vitalgefärbte Teilungszelle. Die Aufnahme zeigt die gleichmäßige Verteilung der Lipocondrien auf die beiden Tochterzellen während der Anaphase. Lebend photographiert.



a



b

Abb. 3a und b. Aufeinanderfolgende Stadien einer Teilungszelle, in isotonischer RINGER-Lösung mit Neutralrot gefärbt. Lebend photographiert.

Follikelepithel besteht aus zylindrischen Zellen, die in einer einfachen Zellschicht das Ei bedecken. Bei Beobachtung in isotonischen Salzlösungen sind die Kerne des Follikelepithels deutlich sichtbar; sowohl das Kerngerüst in den Ruhezellen als auch die Chromosomen der Teilungszellen heben sich durch ihre starke Lichtbrechung deutlich vom Kernsaft ab (Abb. 1, 2, 3). Die Sichtbarkeit ist auch in frisch explantierten Eiröhren, die nur bei Tageslicht betrachtet wurden, ebensogut wie in

älteren Explantaten. An plasmatischen Einschlüssen sind nur die Lipochondrien zu erkennen, auch ohne besondere Färbung, da sie stark lichtbrechend sind. Die Mitochondrien lassen sich dagegen erst nach Anfärbung mit Janusgrün darstellen.

In den Eizellkernen sind keine Chromatinstrukturen sichtbar. Nur die Nukleolen heben sich durch ihre stärkere Lichtbrechung vom Kernsaft ab (Abb. 4), ebenso die Kernmembran. Die sehr kleinen kugeligen Nukleolen sind in der lebenden Eizelle meist kettenförmig angeordnet in der

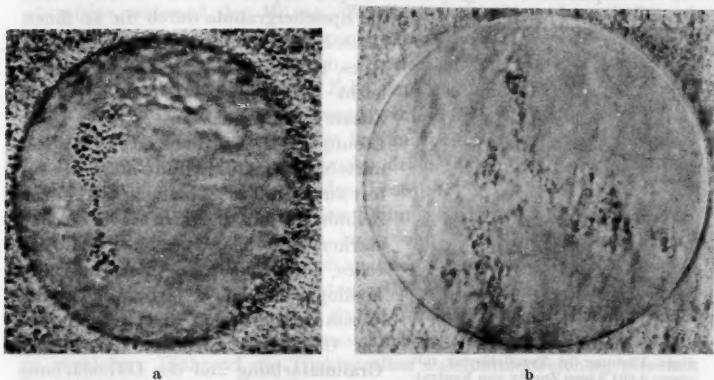


Abb. 4a und b. Eizellkerne in isotonischer Tyrodelösung, lebend photographiert. Die Chromatinstrukturen sind unsichtbar. Die Trübungen im Kern sind durch außerhalb des optischen Schnittes liegende Nukleolen verursacht. Die stark lichtbrechenden Nukleolen sind ebenso wie in fixierten Präparaten kettenförmig angeordnet.

gleichen Art wie im fixierten Präparat (BAUER, 1933). Es finden sich hier also in ein und demselben Organ Zellen, bei denen im Kern die Chromatinstrukturen deutlich zu erkennen sind, während in einer anderen Zellart der Kern bis auf die Nukleolen optisch homogen erscheint.

Schon diese Tatsache läßt es wenig wahrscheinlich sein, daß die Sichtbarkeit der Kernstrukturen in den Follikelepithelzellen auf irgendeiner Zellschädigung beruhen könnte. Zudem befanden sich die Eiröhren während der Beobachtung in isotonischer TYRODE-Lösung, in der auch die Zellteilungen nicht gehemmt wurden. Weitere Anhaltspunkte dafür, daß im Follikelepithel die Kernstrukturen unter normalen Bedingungen sichtbar sind, bietet die vitale Färbung der Eiröhren mit Neutralrot: Lebende Zellen speichern relativ ungiftige basische Farbstoffe in besonderen Strukturen. Meist kommt es dabei zu einer intensiven Anreicherung des Vitalfarbstoffes in präformierten Granulis, seltener wie in Wirbeltierzellen im Bereich des GOLGI-Apparates, zu einer direkten, mikroskopisch erkennbaren Ausflockung des Farbstoffes.

Diese Farbstoffspeicherung stellt eine physiologische Reaktion der Zellen auf das Eindringen des Farbstoffes dar und ist mit der Fettinfiltration vergleichbar (NAGEL, 1929; FISCHER und RIES, 1936). Eine Verwechslung dieser Speicherungsprozesse mit der Anfärbung fertiger Sekretschollen ist bei einiger Kenntnis des Untersuchungsobjektes ziemlich ausgeschlossen. Zu Beginn der Vitalfärbung bemerkt man in den Follikelepithelzellen eine, manchmal allerdings kaum deutliche, diffuse Durchtränkung des Cytoplasmas mit Neutralrot, später wird das Neutralrot elektiv in den Lipochondrien gespeichert [als Lipochondrien erweisen sich

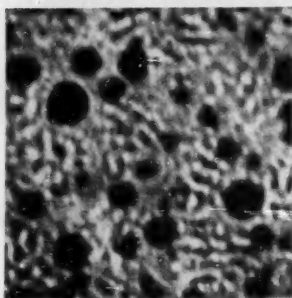


Abb. 5. Follikelepithel nach 28stündiger Färbung in Tyrodelösung mit einem 0,001 %igen Zusatz von Neutralrot. Die Lipochondrien sind stark aufgequollen, die Kernstrukturen sind noch immer völlig ungefärbt.

die Speichergranula durch die an ihnen zu beobachtenden Teilungsprozesse (vgl. RIES, 1934) sowie dadurch, daß sie sehr leicht Osmiumsäure reduzieren]. Bei Zusatz von Essigsäure in 0,1 %iger Lösung oder Zugabe von Fixationsmitteln bleicht die Granulafärbung sofort aus. Diffuse Anfärbung des ganzen Zellinhaltes gilt allgemein als ein Zeichen starker Zellschädigung bzw. des Zelltodes, besonders wenn gleichzeitig im Hyaloplasma stark färbbare Eiweißsubstanzen ausfallen. Überzeugend ist der Gegensatz zwischen der vitalen Granulafärbung und der Diffusfärbung sterbender oder toter Zellen an Gewebekulturen nachgewiesen worden, weil man dabei sicher sein kann, daß

die Zellen sich während des Versuches in einem ihre Vitalität nicht beeinträchtigenden Medium befanden (FISCHER, 1937; GROSSFELD, 1938). Gelangt Essigsäure in verdünnter Konzentration zur Anwendung, so ist die Diffusfärbung der Follikelepithelzellen reversibel (vgl. S. 164).

In den jungen Eizellen färben sich ebenfalls nur die Lipochondrien, die in kleinen Eiern dem Kern kappenartig anliegen, später in einer besonderen Zone im Eioplasma sich anordnen. In den größten Eizellen speichern die Eiweißdotterschollen etwas Neutralrot.

Der Kern bleibt sowohl in den Eizellen als auch in den Follikelepithelzellen stets völlig ungefärbt. Auch wenn die Eiröhren 24 Stunden bis 36 Stunden in TYRODE-Lösung mit Neutralrotzusatz bleiben, dringt kein Farbstoff in den Kern ein. Nur die Lipochondrien quellen bei längerer Anfärbung stark auf (Abb. 5), sonst bleibt das Färbungsbild unverändert. Wenn man Neutralrot statt in TYRODE- in RINGER-Lösung verwendet, ist das Färbungsergebnis das gleiche, doch geht die Anfärbung wesentlich langsamer vor sich.

Die Sichtbarkeit der Kernstrukturen ist in gefärbten Zellen die gleiche wie in ungefärbten. Auch die Zellteilungen im Follikelepithel

der kleineren Eizellen werden durch die vitale Granulafärbung nicht gehemmt (Abb. 2, 3). Wenigstens verläuft die Zellteilung in gefärbten Zellen in typischer Weise und dauert auch etwa ebenso lange wie im ungefärbten Gewebe. Die Beobachtungszeiten vom Ende der Prophase bis zum Beginn der Telophase liegen zwischen 60 und 90 Min. Zellteilungen laufen auch noch in 48 Stunden alten Explantaten im Follikel-epithel ab. In älteren Explantaten wurden sie nur noch selten beobachtet und verliefen vielfach atypisch.

Bemerkenswert erscheint die gleichmäßige Verteilung der Lipochondrien während der Mitose. Zu Beginn der Metaphase ballen sie sich in Klumpen zusammen und werden durch die Protoplasmaströmungen langsam hin- und hergeschoben. Später stellen sie sich regelmäßig im Äquator der sich teilenden Zelle ein (Abb. 1). Während der Anaphasenbewegung der Chromosomen verteilen sich die Lipochondrien dann ziemlich gleichmäßig auf die beiden Tochterzellen. Wahrscheinlich ist für diese Verteilung der Lipochondrien die von BĚLAŘ (1929) beschriebene Fontänenströmung des Protoplasmas verantwortlich. Die Mitochondrien ordnen sich in den Teilungszellen auch im Äquator an, und zwar finden sie sich nach innen von den Mitochondrien. Nach Anfärbung mit Janusgrün läßt sich an ihnen besonders schön die Fontänenströmung des Plasmas beobachten. Ihre Form ändert sich während der Zellteilung etwas. Solange sie im Äquator zusammengeballt sind, sind sie meist stark gekrümmt, manchmal scheinen sie auch miteinander zu verkleben. Während die Tochterzellen auseinanderweichen, strecken sie sich und rücken mehr und mehr auseinander; schließlich verteilen sie sich wieder gleichmäßig in der Zelle.

2. Färbung in RINGER-Lösung mit Zusatz verdünnter Essigsäure.

Die Färbung unter Zusatz mit Essigsäure erschien vor allem deswegen wichtig, weil RIES (1937) in der Axolotlhaut durch Behandlung mit Essigsäure vitale Kernfärbungen erzielen konnte, sowohl in den LEYDIGSchen Zellen als auch in den Epithelzellen.

Setzt man zu einem Gewebestückchen, das bereits mit Neutralrot angefärbt wurde, und dessen Follikelzellen in den Lipochondrien intensiv Neutralrot gespeichert haben, einen Tropfen 0,06%ige Essigsäure, so bleicht die Granulafärbung nach 1—3 Min. aus. Die Kerne färben sich auch nach längerer Zeit nicht. Die Kernstrukturen werden eher etwas undeutlicher. Wird das Gewebe in frischer RINGER- oder TYRODE-Lösung gewaschen (mindestens 15 Min. lang), läßt sich dann unter normalen Bedingungen abermals eine granuläre Farbstoffspeicherung im Cytoplasma erzielen. Auch nach längerer Einwirkung der Essigsäure (40—60 Min.) ist nach Auswaschen noch eine erneute Granulafärbung möglich. Bei längerer Behandlung stirbt meist ein großer Teil des Gewebes ab.

Wenn man ein noch ungefärbtes Gewebestückchen in eine Neutralrotlösung mit entsprechendem Essigsäurezusatz legt, bzw. Follikel-

epithelzellen, bei denen die Granulafärbung durch Essigsäure zerstört worden war, mit Neutralrot färbt, so kommt es zu einer mit der Zeit immer intensiver werdenden Diffusfärbung der ganzen Zelle. Erst nach längerer Zeit zeigen sich im Plasma Koagulationserscheinungen, und dann erfolgt eine Farbstoffanreicherung an ausgefallenen Eiweißstrukturen. Eine elektive Anfärbung der Kerne ist auch nach noch so langem Aufenthalt in der Farbstoff-Essigsäurelösung nicht festzustellen. Wäscht man das so behandelte Follikelepithel beizeiten (längstens nach 30 bis 45 Min.) in frischer RINGER- oder TYRODE-Lösung aus, so zeigt sich, daß die Diffusfärbung der Zellen unter diesen Bedingungen reversibel ist; sie vermögen Neutralrot wieder granulär zu speichern.

In der Eizelle hat die Essigsäurebehandlung eine stärkere Anfärbung der Eiweißdotterschollen in den größeren Eiern zur Folge. Die Lipochondrien dagegen entfärben sich sofort. Der Eizellkern bleibt völlig ungefärbt, es zeigen sich in ihm auch keine Entmischungserscheinungen.

Verwendet man statt 0,06%ige Essigsäure 0,1%ige Essigsäure, so erzielt man mitunter im Follikelepithel eine Anfärbung der Kerne, ebenso auch in den Hüllzellen. Meist aber erfolgt gleichzeitig eine starke Anfärbung des Cytoplasmas, oder es kommt doch nach wenigen Minuten zu typischen Fällungserscheinungen im Plasma. Auch die Anfärbung der Kerne scheint vielfach mit einer Ausfällung der Strukturen verbunden zu sein. Die Kernstrukturen werden feinfädiger und weniger stark lichtbrechend. Vielfach sind an den Kernen auch Schrumpfungsprozesse zu beobachten; zugleich treten auch die Interzellularen sehr stark hervor. Schon nach kurzer Zeit (5—7 Min.) hat man den Eindruck, daß die Zellen meist histologisch gefärbt sind. Dementsprechend waren die Färbungserscheinungen dann auch nicht mehr reversibel. Selbst wenn das Gewebe schon nach 10—15 Min. in TYRODE-Lösung gewaschen wird, zeigt sich bei erneuter Anfärbung unter normalen Außenbedingungen, daß der größte Teil der Zellen abgestorben ist und Vitalfarbstoffe nicht mehr granulär zu speichern vermag. Es ließ sich bei der Essigsäurebehandlung auch keine andere Konzentrationsstufe ermitteln, bei der mit größerer Sicherheit vitale Kernfärbungen aufzutreten wären. Nur selten erwies sich eine Kernfärbung, wenn sofort nach Anfärbung ausgewaschen wurde, als reversibel. Essigsäurebehandlung ist also zur Erzielung vitaler Kernfärbungen im Follikelepithel von *Stenobothrus* weniger geeignet als man nach den Befunden von RIES am Integument von Axolotllarven hätte erwarten können.

Hingegen ließ sich im Eizellkern durch die 0,1%ige Essigsäure eine reversible Anfärbung „entmischter“ Strukturen hervorrufen. Das Chromatin entmischt sich hier in Form großer aufgefasierter Stränge, die etwas an die Lampenbürsten-Chromosomen in den Oocyten von Amphibien und Selachiern erinnern. Die Anfärbung und die Entmischung

sind reversibel; und zwar kommt und schwindet die Färbung immer gleichzeitig mit der Strukturbildung. Die Nukleolen speichern nach Essigsäurebehandlung auch Farbstoff, was sie unter normalen Bedingungen niemals tun. Die Nukleolenfärbung geht im allgemeinen der „Entmischung“ des Eizellkernes etwas voraus.

3. Färbung unter Einwirkung von CO_2 und Sauerstoffmangel.

Einwirkung von Kohlendioxyd und Sauerstoffmangel riefen in den Follikelepithelzellen keine Kernfärbungen hervor. Auch die Eizellkerne „entmischten“ und färbten sich unter diesen Bedingungen nicht.

CO_2 scheint auf die Granulafärbung in den Follikelepithelzellen nur stark hemmend zu wirken. Legt man eine ungefärbte Eiröhre in eine mit CO_2 -gesättigte RINGER-Neutralrotlösung, so tritt nach $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden mitunter eine schwache Anfärbung der Lipochondrien ein, die nach mehreren Stunden allmählich wieder ausbleicht. Dies könnte vielleicht darauf hindeuten, daß es sich bei der vitalen Granulafärbung um einen aktiven Speicherungsprozeß der Zelle handelt, der durch die Vergiftung mit CO_2 gestört wird. Die Hüllzellen der Follikel bleiben im allgemeinen ungefärbt. In einigen tritt nach längerer CO_2 -Behandlung manchmal eine ganz schwache Anfärbung der Kerne auf. Doch zeigt sich diese Erscheinung sehr unregelmäßig, so daß sie wohl hauptsächlich nur in absterbenden Zellen vorkommt.

Die Zellteilungen werden in CO_2 -gesättigter RINGER-Lösung sofort unterbrochen, gehen nach rechtzeitigem Auswaschen in frischer RINGER-Lösung aber weiter.

Der Eizellkern läßt sich durch Einwirkung von CO_2 nicht entmischen. Färbung in einer ausgekochten, durch Paraffinöl gegen den Luft-sauerstoff abgeschlossenen RINGER-Neutralrotlösung hat eine verzögerte Neutralrotspeicherung in den Lipochondrien und eine stärkere Färbung der Dotterschollen in den Eizellen zur Folge. Allem Anschein nach speichern unter diesen Bedingungen nicht nur die Eiweißdotterschollen, sondern auch die Fettdotterschollen Neutralrot.

Das mikroskopische Bild aller Kerne bleibt unverändert.

4. Färbung unter Einwirkung von Dehydrationsmitteln.

Da nach den Befunden von RIES (1937) und BANK (1938) zur Erzielung einer vitalen Kernfärbung mit basischen Vitalfarbstoffen eine Dehydratation der hydrophilen Kernkolloide nötig ist, wurde eine ganze Reihe von dehydratisierenden Stoffen und entquellenden Salzen hinsichtlich ihrer Wirkung auf das Färbungsergebnis geprüft.

Die verschiedenen Dehydrationsmittel übten keine spezifische Wirkung aus. Es ergaben sich aber je nach der Art des angewandten Mittels erhebliche Unterschiede hinsichtlich der zur Erzielung einer vitalen Kernfärbung nötigen Konzentration und der Dauer ihrer Einwirkung.

Ich möchte mich hier darauf beschränken, den Verlauf einer Färbung nach Entquellung mit MgSO_4 und Dehydratation mit Anilin zu beschreiben. Vor der Färbung wurden die Eiröhren 10–15 Min. in eine 5%ige Lösung von MgSO_4 mit einem 0,1%igen Zusatz von Anilin gelegt, zur Färbung diente eine Neutralrot-RINGER-Lösung, die ebenfalls 0,1% Anilin enthielt.

In der MgSO_4 -Lösung schrumpft zunächst das Eiplasma, es hebt sich schon nach 2–3 Min. um das 3–5fache der Höhe des Follikel-epithels von diesem ab. Die Erscheinung ist reversibel und läßt

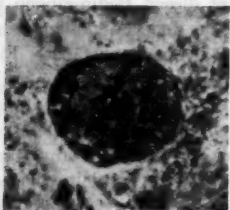


Abb. 6. Hüllzellkern in RINGER-Lösung nach Entquellung in MgSO_4 5% mit Zusatz von Anilin (0,1%) und Neutralrot (0,001%) 6 Min. lang gefärbt. In RINGER-Lösung lebend photographiert. Die Färbung war reversibel.

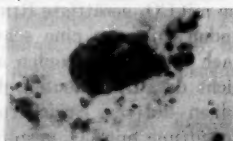


Abb. 7. Bindegewebszellkern, nach Entquellung in 5%iger MgSO_4 -Lösung 5 Min. lang in RINGER-Lösung mit Zusatz von Neutralrot (0,1%) und Anilin (0,2%) 3 Min. lang gefärbt. In RINGER-Lösung photographiert. Die Färbung war reversibel.

sich der Plasmolyse einer Pflanzenzelle vergleichen. Im Eizellkern treten Trübungen auf, aber es kommt noch nicht zu einer deutlichen Entmischung.

Werden die Eiröhren nach 10–15 Min. in die anilinhaltige Neutralrotlösung gebracht, tritt im allgemeinen keine Granulafärbung mehr auf. Nach 5–7 Min. färben sich zunächst die Kerne der Hüllzellen (Abb. 6). Das Plasma bleibt dabei ungefärbt, obgleich sich meist schon deutliche Schrumpfungerscheinungen zeigen. Verwendet man relativ konzentrierte Neutralrotlösungen, so kommt es in bindegewebigen Elementen manchmal zu einer gleichzeitigen Kern- und Granulafärbung (Abb. 7). In der Regel wurde in diesen Zellen jedoch ebensowenig wie im Follikelepithel ein Nebeneinander von Kern- und Granulafärbung beobachtet.

Wenn man die Farblösung nach 10–12 Min. auswäscht, zieht der Farbstoff wieder aus, und bei erneuter Anfärbung unter normalen Außenbedingungen wird er wieder rein granulär im Cytoplasma gespeichert. Es ist jedoch nötig, die Eiröhren zuvor mindestens etwa 30 Min. lang in RINGER- oder TYRODE-Lösung, die mehrmals zu wechseln ist, zu waschen. Läßt man die Eiröhren länger in der anilinhaltigen Farbstofflösung, so beginnen sich (nach etwa 15 Min.) auch die Kerne der Follikel-epithelzellen zu färben (Abb. 8). Eine etwa gleichzeitige Färbung der Follikelepithel- und der Hüllzellkerne erreicht man, wenn man den

Anilingehalt der Farbstofflösung auf ungefähr 0,3—0,5% erhöht. Solche Lösungen wirken aber schon stärker schädigend auf die Zellen, so daß stets ein größerer Teil von ihnen sehr bald abstirbt. Das Kerngerüst erscheint in den Follikelepithelzellen im gefärbten Zustande im allgemeinen feiner als in frischen, nicht vorbehandelten Eiröhren. Besonders intensiv färben sich die Chromosomen während der Zellteilung (Abb. 8, 9). Das Plasma bleibt anfangs völlig ungefärbt, obwohl es häufig Schrumpfungs- und Entmischungserscheinungen geringeren Ausmaßes erkennen

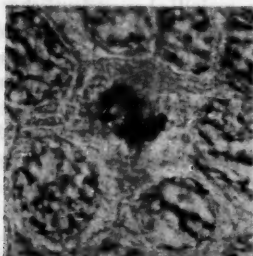


Abb. 8. Follikelepithelzellkerne nach Entquellung in 8 % iger $MgSO_4$ -Lösung angefärbt nach 15 Min. in einer isotonischen RINGER-Lösung, die 0,1% Anilin und 0,001% Neutralrot enthielt. Plasma nahezu ungefärbt, keine Granulafärbung. Die Kernfärbung war reversibel.

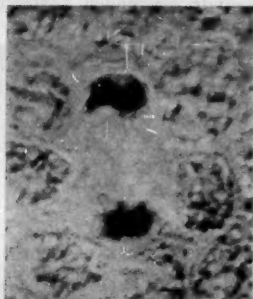


Abb. 9. Reversibel vitalgefärbte Mitose im Follikelepithel, nach 15 Min. langer Einwirkung von einer 0,1% Anilin enthaltenden RINGER-Lösung, darauf 5 Min. lange Anfärbung in Neutralrotlösung mit 0,2% Chloroform. Vorher Entquellung in 0,5 iger $MgSO_4$ -Lösung.

läßt. Nach weiteren 20—30 Min. beginnt sich auch das Plasma stärker zu färben. Bringt man die Eiröhren vorher wieder in frische RINGER-Lösung, die man mehrmals wechselt, so schwinden die Kernfärbungen in fast allen Zellen; und diese Zellen vermögen dann größtenteils unter normalen Bedingungen wieder Farbstoff in granulärer Form zu speichern. Ein paarmal konnte auch beobachtet werden, daß sich teilende Zellen, die angefärbt worden waren, sich nach langem und sorgfältigem Auswaschen so weit wieder erholten, daß die während der Färbung sistierte Zellteilung noch zu Ende ging. Allerdings wurde dieses nur selten beobachtet, zumal es auch aus technischen Gründen nicht leicht ist, nach dem Auswaschen dieselben Zellen wieder aufzufinden. In Zellen mit deutlich angefärbten Chromosomen fand ich die Teilungsprozesse immer sistiert. Ob die Teilungsvorgänge nur stark gehemmt sind, läßt sich nicht entscheiden, da die Zellteilung normalerweise länger dauert als die vitale Kernfärbung anhält.

Die Behandlung mit dehydratisierenden Mitteln wirkt im allgemeinen sicher stark schädigend auf das Gewebe. Denn es fanden sich in den

Eiröhren, die der Einwirkung dehydratisierender Mittel ausgesetzt worden waren, stets eine große Zahl abgestorbener Zellen, die sich irreversibel diffus färbten. Dehydratisierung mit Alkohol und Chloroform ist etwas schonender, doch läßt sich mit schwachprozentigen Lösungen nicht so zuverlässig wie mit Anilin Kernfärbung erzielen. Arbeitet man aber mit konzentrierteren Lösungen (10—20 %), so erweist sich die schädigende Wirkung als mindestens ebenso stark wie die des Anilins.

In den Eizellkernen kommt es meist erst nach längerer Einwirkung der dehydratisierenden Farbstofflösung zu einer Entmischung und Anfärbung des Chromatins. Die Fällungsstrukturen sind aber undeutlicher als nach Einwirkung von verdünnter Essigsäure (Abb. 10). Die Färbung und Fällung ist nur im Anfangsstadium reversibel. Schon nach 3 bis 5 Min. läßt sie sich durch Auswaschen meist nicht mehr beseitigen.



Abb. 10. Chromatinstrukturen im Eizellkern angefärbt nach etwa 20 Min. in isotonischer RINGER-Lösung, die 0,15 % Anilin und 0,001 % Neutralrot enthielt, gleichzeitig Entquellung in 10 %iger $MgSO_4$ -Lösung. In RINGER-Lösung photographiert. Die Strukturbildung war reversibel, ebenso, und zwar gleichzeitig die Färbung.

5. Färbung in hypotonischen Medien.

Verdünnt man das isotonische Medium während der Beobachtung mit destilliertem Wasser, so quellen die Zellen sofort deutlich auf. Das Cytoplasma wird dünnflüssiger, wie die lebhaftere Bewegung der Plasmaeinschlüsse zeigt, und etwas weniger lichtbrechend. Bei einer Verdünnung von RINGER- oder TYRODE-Lösung im Verhältnis 1 : 2 quellen auch die Kerne

etwas auf. Selbst am Kerngerüst und den Chromosomen läßt sich eine gewisse Volumenzunahme feststellen. Der Brechungsindex dieser Strukturen nimmt dabei deutlich ab.

Bei einer Verdünnung von 1 : 1 werden die Kernstrukturen undeutlich (Abb. 11). Nach längerem Aufenthalt in solchen hypotonischen Salzlösungen schwinden sie völlig. Auch BĚLAŘ (1929) hatte schon festgestellt, daß in hypotonischen Medien die Spermatocytenkerne von *Stenobothrus* undeutlicher erscheinen bzw. völlig verschwinden.

Überraschenderweise zeigte sich nun, daß durch diese Vorgänge die vitale Granulafärbung überhaupt nicht beeinflußt wird. Selbst wenn die Kernstrukturen schon vor der Färbung durch hypotonische Medien zum Schwinden gebracht waren, und die Eiröhren nun in eine hypotonische Farbstofflösung gelegt werden, erfolgt in kurzer Zeit eine typische Granulafärbung, in der sonst optisch homogen erscheinenden Zelle (Abb. 12). Die Zellen sehen jetzt genau so aus wie im allgemeinen ungeschädigte Zellen von Wirbeltieren in isotonischen Salzlösungen. Selbst in

destilliertem Wasser, dem etwas Neutralrot zugesetzt ist, kommt es stets zu einer intensiven Speicherung von Neutralrot in den Lipochondrien, die in hypotonischen Lösungen meist am Rande der Zellen liegen.

Die Zellen vertragen den Aufenthalt in hypotonischen Salzlösungen sehr lange. Auch die Zellteilungen gehen ungehindert weiter, nur sind sie in hypotonischen Medien schwerer zu beobachten, weil die Kernstrukturen unsichtbar sind.

In destilliertem Wasser werden die Kerne nach 45—60 Min. wieder sichtbar. In einigen Zellen treten irreversible histologische Färbungen auf, so daß man annehmen darf, daß es sich bei dieser Strukturbildung um Fällungserscheinungen in absterbenden Zellen handelt. Überträgt man die Eiröhren, sobald die ersten Entmischungserscheinungen auftreten, aus destilliertem Wasser wieder in isotonische Salzlösung, so erweisen sich sowohl die Entmischungsvorgänge als auch die Färbungen als reversibel. Die Entmischung und Färbung der Kerne in destilliertem Wasser ist also im Anfangsstadium noch vital.

In 1:1 bis 1:3 verdünnter RINGER-Lösung erscheinen die Zellen selbst nach 12 Stunden nicht merkbar geschädigt, auch die granuläre Farbstoffspeicherung bleibt solange bestehen. Bei Übertragung aus der hypotonischen in eine isotonische Salzlösung werden die Kernstrukturen immer wieder sichtbar, umgekehrt schwinden sie jedesmal im hypotonischen Medium wieder. Der Vorgang läßt sich mehrmals wiederholen, ohne daß die Zellen darunter merklich leiden. Diese Beobachtungen zeigen also, daß die Sichtbarkeit der Kernstrukturen weitgehend von der jeweiligen Salzkonzentration des Mediums abhängig ist.

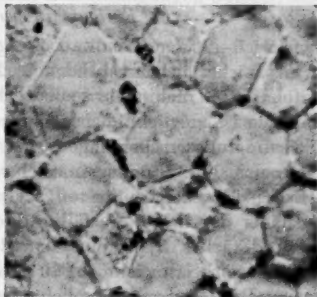


Abb. 11. Lebende Follikelepithelzellen in hypotonischer (auf $\frac{1}{2}$ mit destilliertem Wasser verdünnter) Tyrodelösung. Nach 2 $\frac{1}{2}$ stündigem Aufenthalt in diesem Medium sind die Kerne fast unsichtbar geworden. Die Granulafärbung ist unverändert erhalten geblieben.

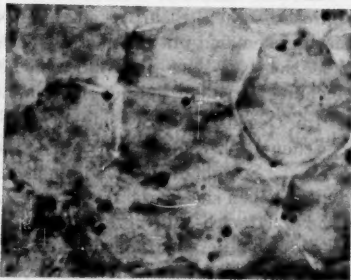


Abb. 12. Anfärbung der Lipochondrien mit Neutralrot (0,001 %) in destilliertem Wasser, in dem sich die Eiröhre seit 10 Min. befand. Die Kerne sind unsichtbar, von einigen sind noch die Nukleolen zu erkennen.

Die Kerne der Hüllzellen verhalten sich entsprechend wie die des Follikelepithels. Der Eizellkern blieb in hypotonischem Medium unverändert.

6. Färbung in hypertonischem Medium.

In 1,5—2% iger RINGER-Lösung schrumpfen die Zellen; das Cytoplasma wird stärker lichtbrechend; die Kerne des Follikelepithels heben sich infolgedessen nicht mehr so deutlich vom Plasma ab. Eine vitale Granulafärbung ist möglich, ebenso sind noch Zellteilungen zu beobachten. Die Schrumpfungerscheinungen sind reversibel, wenn die Eiröhren nicht länger als 1—2 Stunden in solchen hypertonischen Lösungen verbleiben. In den Eizellkernen treten reversible Trübungen auf, die aber nicht zu einer deutlichen Ausfällung der Chromatinstrukturen führen.

In stärker hypertonischen RINGER-Lösungen sind die Kerne des Follikelepithels nicht mehr zu erkennen, da das entquollene Plasma, wie schon BĚLAŘ über entquollene Spermatoocyten bemerkt, etwa denselben Brechungsindex wie die Kernstrukturen hat. Granulafärbung wurde im Follikelepithel nach Einwirkung von 5% iger RINGER-Lösung nicht beobachtet. Statt dessen erscheint es ebenso wie die Hüllzellen diffus gefärbt. Reversible, distinkte Kernfärbungen ließen sich nicht sicher nachweisen, da auch nach Auswaschen in isotonischen Salzlösungen im Plasma keine granuläre Farbstoffspeicherung wieder auftrat.

IV. Besprechung der Befunde.

In den Eiröhren von *Stenobothrus* finden sich hinsichtlich ihrer mikroskopischen Sichtbarkeit zwei verschiedene Kerntypen. In den Eizellkernen sind unter normalen Verhältnissen die Chromatinstrukturen nicht sichtbar. Nur die Nukleolen heben sich durch ihre starke Lichtbrechung von dem übrigen Kerninhalt ab.

Im Gegensatz dazu sind die Kerne des Follikelepithels in physiologischen Salzlösungen in allen strukturellen Einzelheiten deutlich sichtbar. Sowohl die Chromosomen der Ruhekerne als auch der Teilungsstadien heben sich durch ihre starke Lichtbrechung deutlich vom Plasma ab. Es hat sich nun gezeigt, daß die Sichtbarkeit dieser Kerne weitgehend von der Salzkonzentration des bei den Untersuchungen verwendeten Mediums abhängt.

In RINGER-Lösungen von 0,5—2% sind die Kerne stets ohne weiteres zu erkennen. In Salzlösungen, die stärker hypotonisch oder hypertonisch sind, schwinden die Kernstrukturen. Läßt man das Gewebe nicht zu lange in solchen Lösungen, so werden die Zellen dabei nicht, zum mindesten nicht in schwerem Maße, geschädigt. Das geht daraus hervor, daß die typische Granulafärbung, die nur in lebenden Zellen auftritt, bei diesen Versuchen nicht gestört wird, daß ferner die Zellteilungen nach Beendigung des Versuches weiter gehen. Sie laufen überhaupt ungestört

weiter, wenn das Medium nur schwach hypotonisch ist, während hyper-tonische Lösungen eher die Zellteilung hemmen. Schließlich spricht auch die Tatsache, daß die Strukturen reversibel wieder sichtbar gemacht werden können, dafür, daß keine schweren Zellschädigungen aufgetreten sein können.

Eine in irgendeinem Medium vorhandene Struktur kann natürlich überhaupt nur gesehen werden, wenn sie einen Brechungsindex aufweist, der von dem des Mediums verschieden ist. Wenn sich durch Entquellung die Strukturdichte des Plasmas oder des Kernsaftes ändert, kann ein Zustand eintreten, in dem die Chromatinstrukturen im sichtbaren Licht sich nicht mehr unterscheiden lassen. Ebenso können die Chromatinstrukturen durch starke Quellung denselben Brechungsindex wie Kernsaft und Plasma erreichen.

Im Follikelepithel von *Stenobothrus* befinden sich die Chromosomen sowohl in den Ruhe- als auch in den Teilungszellen in einem bestimmten Quellungszustand. Das geht daraus hervor, daß sie unter der Einwirkung entquellender Substanzen feinfädiger werden, also etwas schrumpfen. Die Quellung ist unter normalen Außenbedingungen aber beschränkt. Erst bei starker Hypotonie des Mediums nimmt die Quellung zu, bis die Strukturen unsichtbar werden.

Die normalerweise unsichtbaren Chromatinstrukturen im Eikern sind offenbar unter isotonischen Bedingungen viel stärker gequollen bzw. solvatisiert, jedenfalls können sie durch stark entquellende und dehydratisierende Substanzen reversibel sichtbar gemacht werden.

Wenn nun in demselben Organ unter gleichen Außenbedingungen die Chromatinstrukturen teils sichtbar, teils unsichtbar sind, wenn ferner durch bestimmte experimentelle Eingriffe in einem Zelltyp die Chromosomen unsichtbar gemacht, in einem anderen sichtbar werden können, ohne daß zugleich schwere Zellschädigungen zu erkennen sind, so hängt es wohl von den verschiedenen physiologischen Bedingungen bzw. von den besonderen kolloidchemischen Zuständen in den verschiedenen Zelltypen ab, ob die Chromosomen im Leben sichtbar sind oder nicht.

Wie es scheint, spielen dabei wohl leicht reversible Entmischungsvorgänge kolloidaler Systeme eine Rolle.

Kolloidchemisch sind solche Entmischungserscheinungen durch die Vorstellungen von BUNGENBERG DE JONG und KRUTT über die Koazervation in Solen bisher am verständlichsten gemacht worden. Sie vermögen vor allem zu erklären, wie durch eine Änderung der Hydratation hydrophiler Kolloide, besonders schon durch eine teilweise Dehydratation mikroskopische Strukturen entstehen und gegebenenfalls durch Solvation wieder schwinden können. Da sich Wassermoleküle im elektrischen Feld infolge der ungleichen Verteilung ihrer Ladungen als Dipole etwa wie Magnetstäbchen verhalten, sind hydrophile Kolloidteilchen von einer Hydrathülle umgeben. Wie VAN BEMMELN nachwies, nehmen die elektrostatischen Kräfte, welche die Anziehung bedingen, in der Hydrathülle nach außen zu ab. Infolgedessen gibt es zwischen den gerichteten Dipolen und den frei beweglichen Wassermolekülen

des Dispersionsmittels keine konkrete Grenze. Die Kolloidteilchen tragen einen diffusen Hydratmantel, wie es BUNGENBERG DE JONG ausgedrückt hat. Partielle Dehydratation bewirkt eine schärfere Trennung zwischen Hydrat- und Dispersionswasser. Die Kolloidteilchen bekommen dann Solvatmäntel mit konkreter Grenze, die infolge der Oberflächenenergie miteinander verschmelzen müssen, und es entsteht so ein Konglomerat, ein Koazervat, mit einer konkreten Oberfläche gegenüber dem Dispersionsmittel (vgl. hierzu auch die Ausführungen von FREY-WYSSLING 1938 in „Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate“). Nach BUNGENBERG DE JONG besteht in solchen Systemen ein Gleichgewicht zwischen Solvat und Dispersionsmittel; bei stofflichen und thermischen Veränderungen nimmt das Koazervat entweder Wasser aus dem Dispersionsmittel auf (Quellung) oder gibt Wasser ab (Entquellung).

Es wäre denkbar, daß durch ähnliche Vorgänge an den hydrophilen Kernkolloiden, die Chromosomen im mikroskopischen Bilde sichtbar werden oder schwinden können. Einen Anhaltspunkt dafür, daß die Chromosomen bei der Dehydratation tatsächlich Wasser abgeben, bietet ihre Volumenverringerung, die sich direkt beobachten läßt. Um was für Vorgänge es sich dabei im einzelnen handelt, bedarf jedoch noch einer besonderen Untersuchung. Die Vorstellungen BUNGENBERG DE JONGs über die Koazervation hydrophiler Kolloide wurden an Modellen gewonnen (z. B. Ausflockung isoelektrischer Gelatine mit Isopropylalkohol bei 45°, Bildung von Komplexkoazervaten in einem Gemisch von Gelatine, Gummi arabicum und Hefenukleinsäure). Im Kern liegen sicher viel kompliziertere Verhältnisse vor. Besonders spielt hier auch das Vorhandensein einer submikroskopischen Molekularstruktur eine Rolle (vgl. FREY-WYSSLING). Eine Reihe von Tatsachen beweisen die Existenz eines solchen Gerüsts. In Zellen, deren Kernen, wie im Follikel-epithel von *Stenobothrus*, im Leben sichtbar sind, stimmen die Strukturen des lebenden Kernes, mit den im fixierten Präparat zu beobachtenden überein. Verschiedenen Gewebearten ist eine typische Kernstruktur eigen; auch bei Anwendung verschiedener Fixationsmittel zeigt sich im wesentlichen stets dieselbe, charakteristische Kernstruktur. An den optisch leeren Kernen der Axolotlepidermis stellte ZEIGER (1935) die „Ortsbeständigkeit“ der durch Essigsäurebehandlung im Kernraum reversibel sichtbar gemachten Strukturen fest. Vor allem gelang CASPERSSON (1936) mit Hilfe der Ultraviolett-mikroskopie der Nachweis, daß auch in der lebenden Zelle, selbst in optisch leeren Kernen, immer ein Gerüst vorhanden ist, das durch die starke Absorption des ultravioletten Lichtes durch die Nukleinsäure deutlich hervortritt. — Hinsichtlich der vitalen Präformation der Kernstrukturen ist es mithin belanglos, ob sie mikroskopisch sichtbar oder unsichtbar sind.

Wie die Befunde über die vitale Kernfärbung ergeben, verhalten sich die im Kernraum sichtbaren Strukturen bei verschiedenen Zelltypen gegenüber Vitalfarbstoffen verschieden. Die normalerweise in bestimmten Zellarten im Leben sichtbaren Strukturen färben sich nicht, dagegen sind die Strukturen, die in optisch homogenen Kernen nach Dehydratation

oder Einwirkung dispersitätsvermindernder Mittel erscheinen, vital reversibel färbbar. Das verschiedene Verhalten läßt auf einen verschiedenen Zustand solcher Strukturen schließen. Da sich bei *Stenobothrus* einerseits durch Aufenthalt in einem hypotonischen Medium, andererseits durch Dehydratation der eine Zustand in den anderen überführen läßt, scheint hierbei die Solvation der Kernkolloide bzw. ihre Quellung eine wichtige Rolle zu spielen.

Die Vitalfärbungen am Follikelepithel von *Stenobothrus* ergaben vor allem, daß die Sichtbarkeit von Kernstrukturen in der lebenden Zelle nicht von allgemeiner Bedeutung für die vitale Kernfärbung ist, wie BANK (1938) meint. Die vitale Kernfärbung trat sowohl bei optisch homogenen als auch bei normalerweise in allen Einzelheiten sichtbaren Kernen unter grundsätzlich gleichen Bedingungen ein. Dehydratation hatte in beiden Fällen eine Vitalfärbung des Kernes zur Folge. Im wesentlichen ergaben sich nur quantitative Unterschiede hinsichtlich der erforderlichen Konzentration der dehydratisierenden bzw. dispersitätsvermindernden Substanzen. Solche waren aber auch bei verschiedenen Zelltypen in Geweben festzustellen, die sich hinsichtlich der Sichtbarkeit der Kerne unter normalen Bedingungen gleich verhalten. Sie beruhen wohl auf besonderen kolloidchemischen Zuständen in verschiedenen Zellarten. Deshalb ist bei einer bestimmten Konzentration des Dehydratationsmittels und zeitlich begrenzter Einwirkung eine elektive Anfärbung der Hüllzellkerne in den Eiröhren von *Stenobothrus* möglich, während die Kerne des Follikelepithels noch ungefärbt bleiben. Ebenso ergibt sich unter besonderen Bedingungen in der Axolotl-epidermis eine elektive Färbung der Kerne verschiedener Gewebe (vgl. RIES, 1937).

Die Färbung des lebenden Zellkernes ist wahrscheinlich ebenso wie seine histologische Färbung ein kolloidchemisches Phänomen. Wenn dehydratisierende bzw. dispersitätsvermindernde Mittel den Zellkern für Vitalfarbstoffe färbbar machen, muß seine, wie es scheint, unter normalen Bedingungen in allen Geweben zu beobachtende Nichtfärbbarkeit auf die Dispersion und Hydratation der Kernkolloide irgendwie zurückzuführen sein. Nach RIES (1937) ist die Ladung der Kolloidteilchen durch die Wasserdipole ihrer Hydrathülle abgesättigt, so daß sie nicht mit den Farbstoffmolekülen reagieren können. Erst nach Dehydratation ist eine polare Adsorption von Farbstoffmolekülen möglich.

Es soll nun nicht der Eindruck erweckt werden, als ob die Dehydratation der Kernkolloide bzw. ihre Dispersionsverminderung die einzigen Faktoren seien, die bei der vitalen Kernfärbung eine Rolle spielen. Wahrscheinlich sind hier noch eine Reihe von Vorgängen beteiligt, die sich irgendwie summieren, von denen aber nur die Dehydratation experimentell erfaßt werden konnte. Nach FREY-WYSSLING (1938)

sollen bei der vitalen Kernfärbung im Kern vorher masquierte saure Gruppen durch Hydrolyse frei gelegt werden. Es ist möglich, daß im Verlauf der Veränderungen, welche durch die Einwirkung der dehydratisierenden Stoffe bewirkt werden, vielleicht unter anderem auch hydrolytische Prozesse ausgelöst werden. Sie lassen sich aber vorläufig nicht experimentell erfassen, zum mindesten ergeben sich aus den vorliegenden Befunden keine direkten Anhaltspunkte dafür, denn Anilin, Aceton und Alkohol können unmittelbar wohl nicht hydrolytisch wirken. Auch die Wirkung der Essigsäure, mit der RIES (1937) gute vitale Kernfärbungen erzielen konnte; ist meines Erachtens vor allem auf ihre Neigung Hydrate zu bilden, zurückzuführen, wodurch die Kernkolloide dehydratisiert werden, besonders wenn man die von RIES und mir angewandten Konzentrationen berücksichtigt, und auch, daß die Prozesse alle in wäßriger Salzlösung vor sich gehen.

Um den Mechanismus des Färbevorganges genauer zu erfassen, sind jedenfalls noch weitere Untersuchungen erforderlich. Vor allem ist auch zu prüfen, ob eine Reaktionsänderung der Kernkolloide für die vitale Färbung der Chromosomen von Bedeutung ist, zumal es sich dabei um Eiweißkörper handelt, die als Ampholyte je nach der Reaktion des Dispersionsmittels sauer oder alkalisch reagieren können. Nach ALEXANDROW (1932), NASSONOW (1932), KAMNEV (1934), MAKAROV (1934) ist die Vitalfärbbarkeit der Kerne mit einem Saurerwerden des Plasmas verbunden. Versuche von GERSCH (1937) ergaben, allerdings daß bei *Paramacium* gerade das Umgekehrte festzustellen ist. Die Reaktion der Kerneiwieße wird sich aber auch erst nach der Dehydratation geltend machen, da ihre Ladungen vorher infolge des Dipolmomentes der Wassermoleküle abgesättigt sind (vgl. RIES, 1938). Wir wissen aber über die Innenreaktion des lebenden Kernes heute noch zu wenig, als daß eine Diskussion in dieser Richtung besonders lohnend sein könnte. Es sei daher von einer weiteren Erörterung dieser Dinge, wie überhaupt von einer ausführlichen Besprechung der bisher vorliegenden Literatur zur Frage der vitalen Kernfärbung abgesehen. Verwiesen sei dafür auf das Sammelreferat von BECKER (1936) über vitale Cytoplasma- und Kernfärbungen, sowie auf die Arbeit von RIES (1937) über Kernfärbungen im Integument von Axolotilarven, wo die älteren Theorien zur vitalen Kernfärbung eingehend diskutiert werden.

Hier ist nur noch zu erörtern, inwiefern es berechtigt ist, die oben beschriebenen Kernfärbungen als vitale Färbungen zu bezeichnen. Die Frage ist nicht leicht zu beantworten, denn es gibt kein Kriterium für die Vitalität einer Zelle schlechthin. Bei Pflanzenzellen vermag die reversible Plasmolyse dafür einen Anhaltspunkt zu geben, wenngleich die Bedeutung dieser Erscheinung auch bezweifelt worden ist (BĚLAŠ, 1930). Bei tierischen Geweben ist nur aus dem Färbungsbild selbst zu erkennen, ob die Zellen noch leben oder nicht. Unter normalen

Außenbedingungen speichern lebende Zellen die Vitalfarbstoffe granulär im Cytoplasma. Tote Zellen sind diffus gefärbt und zeigen eventuell eine histologische Färbung der Fällungsstrukturen im Hyalplasma und im Kern. Vitale Kernfärbungen sind fast immer distinkt, d. h. das Plasma bleibt ungefärbt und läßt meist auch keine deutlichen Koagulationserscheinungen erkennen. Im Gegensatz zur histologischen Färbung ist die vitale Kernfärbung vor allem reversibel, d. h. wenn innerhalb einer beschränkten Zeit wieder normale Außenbedingungen hergestellt werden, muß die Zelle Vitalfarbstoffe wieder granulär zu speichern vermögen (vgl. BECKER, 1936; RIES, 1937; BANK, 1938; GROSSFELD, 1938 u. a.).

Die Kernfärbungen, die im Follikelepithel von *Stenobothrus* nach Dehydratation auftraten, waren in ihren Anfangsstadien durchaus reversibel. Außerdem gab es hier noch eine andere Möglichkeit zur Prüfung, ob die Zellen während der Färbung noch lebten. Wurden die dehydratisierenden Substanzen rechtzeitig ausgewaschen, so vermochten sich die Zellen später im Explantat noch zu teilen. In einigen Fällen konnte dies an Zellen, die gefärbt gewesen waren, auch direkt beobachtet werden.

Andererseits darf nicht übersehen werden, daß unter den Versuchsbedingungen, die eine vitale Kernfärbung ermöglichen, die Zellen früher oder später absterben, wenn nicht rechtzeitig wieder normale Außenbedingungen hergestellt werden. Solange die Zellen unter der Einwirkung dehydratisierender Substanzen im Kern Vitalfarbstoffe speichern, befinden sie sich in einem instabilen Zustand, der schon den Übergang zum Zelltod darstellt. Die reversible Vitalfärbung der Kerne ist also nur vorübergehend während eines besonderen physiologischen Zustandes der Zelle möglich, und sie tritt als ein charakteristisches Übergangsstadium zwischen der typischen Vitalfärbung und der postvitalen histologischen Färbung auf.

Zusammenfassung.

1. In ungeschädigten Follikelepithelzellen von *Stenobothrus lineatus* sind die Kernstrukturen in isotonischen Salzlösungen sichtbar. Es wird angenommen, daß sie sich in einem bestimmten Quellungszustand befinden, da nach Einwirkung entquellender und dehydratisierender Substanzen an ihnen eine Schrumpfung festzustellen ist.

2. In hypotonischen Medien sind die Kerne des Follikelepithels nicht zu erkennen. Eine Zellschädigung läßt sich dabei nicht feststellen: im Cytoplasma werden Vitalfarbstoffe in typischer Weise granulär gespeichert, die Zellteilungen werden nicht unterbrochen. Die Unsichtbarkeit der Chromosomen in hypotonischen Medien wird darauf zurückgeführt, daß sie stärker gequollen bzw. die Kernkolloide stärker solvatisiert sind.

3. In hypertonen Medien sind die Follikelepithelkerne ebenfalls nicht sichtbar, doch haben stark hypertone Salzlösungen meist nach kurzer Zeit eine irreversible Schädigung der Zellen zur Folge.

4. Im Eizellkern sind bei Beobachtung in isotonischer Salzlösung nur die meist kettenförmig zusammenhängenden Nukleolen zu erkennen. Durch dispersitätsmindernde und dehydratisierende Mittel wird das Chromatin zunächst reversibel ausgefällt.

5. Das mikroskopische Bild der Zellkerne ändert sich bei *Stenobothrus* also entsprechend den äußeren Bedingungen im Medium. Die Salzkonzentration, vielleicht auch Reaktionsänderungen (?), spielen dabei eine Rolle. Es wird erwogen, daß im Rahmen der Vorstellungen BUNGENBERG DE JONGS über die Koazervation hydrophiler Kolloide eine Erklärung für die reversiblen Entmischungserscheinungen in Zellkernen gefunden werden kann.

6. Die unter normalen Außenbedingungen sichtbaren Kernstrukturen des Follikelepithels sind erst nach Einwirkung von Dehydrationsmitteln vital färbbar.

7. Es ist daher anzunehmen, daß auch in den in ungeschädigten Zellen sichtbaren Kernen von *Stenobothrus* die Kernkolloide hydratisiert sind und infolgedessen basische Farbstoffe nicht zu absorbieren vermögen.

8. Die Vorstellung, daß die Nichtfärbbarkeit des lebenden Zellkernes vor allem durch die Hydratation der Kernkolloide bedingt sei (RIES, 1937), ist also nicht nur bei normalerweise optisch leeren Kernen, sondern auch bei solchen, deren Strukturen normalerweise sichtbar sind, möglich.

9. Die Frage, ob und in welcher Weise Reaktionsänderungen der Kernkolloide bei der vitalen Kernfärbung eine Rolle spielen, muß noch offen bleiben.

Literaturverzeichnis.

- Alexandrov, W.: Über die Bedeutung der oxydo-reduktiven Bedingungen für die vitale Färbung, mit besonderer Berücksichtigung der Kernfärbung in lebenden Zellen. *Protoplasma* (Berl.) 17 (1932). — Bank, O.: Die umkehrbare Entmischung des Kernes bei *Allium cepa* und im *Arbacia*-Ei. *Protoplasma* (Berl.) 19 (1933). — Dehydratation, ein die reversible Entmischung der Kernkolloide bedingender Faktor. *Protoplasma* (Berl.) 29 (1938). — Die Vitalfärbung des Zellkernes mit basischen Farbstoffen, ebenda. — Bauer, H.: Die wachsenden Oocytenkerne einiger Insekten in ihrem Verhalten zur Nuklealfärbung. *Z. Zellforsch.* 18 (1933). — Der Aufbau der Chromosomen aus den Speicheldrüsen von *Chironomus Thummi* KIEFFER. (Untersuchungen an den Riesenchromosomen der Dipteren I.) *Z. Zellforsch.* 23 (1935). — Becker, A.: Vitale Cytoplasma- und Kernfärbungen. *Protoplasma* (Berl.) (1936). — Bälz: Der Formwechsel der Protistenkerne. Eine vergleichend-morphologische Studie. *Erg. Zool.* 6 (1926). — Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. II. Untersuchungen an den Spermatocyten von *Chorthippus* (*Stenobothrus*) *lineatus* PANZ. Roux' Arch. 118 (1929). — Über die reversible Entmischung des lebenden Protoplasmas. *Protoplasma* (Berl.) 9 (1930). — Bungenberg de Jong, H. G.: Die Koazervation und ihre Bedeutung für die Biologie. *Protoplasma* (Berl.)

15 (1932). — Caspersson, T.: Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkernes. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) 73 (1936). — Chambers, R.: Les structures mitochondriales et nucléaires dans les cellules mâles chez la Santerelle. Cellule 35 (1924). — Fischer, L.: Über die Pigmentbildung des Irisepithels in vitro. Arch. exper. Zellforsch. 21 (1937). — Fischer, L. u. E. Ries: Das Verhalten der Pankreaszelle des Hühnchens in der Gewebekultur. Arch. exper. Zellforsch. 18 (1936). — Frey-Wyssling: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Protoplasma monographien, Bd. 15. 1938. — Gersch, M.: Vitalfärbung als Mittel zur Analyse physiologischer Prozesse (Untersuchungen an *Paramecium caudatum*). Protoplasma (Berl.) 27 (1937). — Großfeld, H.: Methode der Permeabilitätsbestimmung tierischer Gewebezellen in vitro. Protoplasma (Berl.) 29 (1938). — Osmotischer Druck und Vitalfärbung. Protoplasma (Berl.) 29 (1938). — Herwerden, M. A. van: Umkehrbare Gelbildung und histologische Fixierung. Protoplasma (Berl.) 1 (1926). — Kamnev, I. E.: Der Einfluß von hypo- und hypertonen Lösungen auf die Struktur und Vitalfärbung der Epithelzellen des Amphibiendarmes (*Rana temp., Triton taen.*). Protoplasma (Berl.) 21 (1934). — Lewis, M. R.: Reversible gelation in living cells. Bull. Hopkins Hosp. 34 (1923). — Makarov, P.: Analyse der Wirkung des Kohlendioxids und der Cyanide auf die Zellen mit Hilfe der Vitalfärbung. Protoplasma (Berl.) 20 (1934). — Martens, P.: Recherches expérimentales sur la cinétique dans la cellule vivante. Cellule 38 (1928). — Möllendorff, W. von: Vitale Färbungen an tierischen Zellen. Erg. Physiol. 18 (1920). — Nagel, A.: Über die Wirkung verschiedener Faktoren, insbesondere narkotisierender Substanzen auf die vitale Methylenblaufärbung bei in vitro gezüchteten Fibrocyten. Z. Zellforsch. 13 (1931). — Untersuchung über die Vitalfärbung in vitro gezüchteter Fibrocyten erwachsener Kaninchen. II. Die Beziehungen zwischen Fettablagerung und Deponierung von Neutralrot und Methylenblau. Z. Zellforsch. 10 (1934). — Nasonov, D.: Über den Einfluß der Oxydationsprozesse auf die Verteilung von Vitalfarbstoffen in der Zelle. Z. Zellforsch. 11 (1930). — Über die Ursachen der reversiblen Gelatinierung des Zellkernes. Protoplasma (Berl.) 15 (1932). — Vitalfärbung des Makronukleus aerober und anaerober Infusorien. Protoplasma (Berl.) 17 (1932). — Prowazek, S.: Giftwirkung und Protozoenplasma. Arch. Protistenkunde 18 (1910). — Ries, E.: Untersuchungen über den Zelltod. I. Die Veränderung der Färbbarkeit beim Absterben der Zellen, mit besonderer Berücksichtigung der vitalen und postvitalen Kernfärbung. Z. Zellf. 26 (1937). — Grundriß der Histophysiologie. Leipzig 1938. — Ries, E. u. M. Gersch: Gibt das fixierte Präparat ein Äquivalentbild der lebenden Zelle? Z. Zellforsch. 25 (1937). — Ries, E. u. P. B. van Weel: Die Eibildung der Kleiderlaus, untersucht an lebenden, vitalgefärbten und fixierten Präparaten. Z. Zellforsch. 20 (1934). — Zeiger, K.: Zum Problem der vitalen Struktur des Zellkernes. Z. Zellforsch. 22 (1935). — Physikochemische Grundlagen der histologischen Methodik. Dresden u. Leipzig 1938.

(John Innes Horticultural Institution, Merton.)

THE EXTERNAL MECHANICS OF THE CHROMOSOMES, VII. ABNORMAL MITOSIS IN THE POLLEN-GRAIN.

By

MARGARET UPCOTT.

With 13 figures in the text.

(Eingegangen am 24. März 1939.)

1. Introduction.

Recent accounts of mitosis in the pollen-grain have revealed the existence of a number of different types of abnormality. In an earlier study in this series on *Fritillaria* (DARLINGTON, 1936), these were shown to be due to the upset of the normal co-ordination between external and internal of chromosome movements, but it was not clear how far they were controlled by the variable reaction of the maternal genotype and how far by the properties of the individual pollen-grain.

My present object is to consider new observations in relation to these earlier accounts and to show how far it is possible to infer the immediate action of the genotype in the pre-mitotic nucleus of the pollen-grain.

I have already published (in collaboration with Dr. PHILP) the methods used in making the preparations and a general account of the first pollen-grain division in polyploid species of *Tulipa* (1939). Here we considered only the normal divisions which of course predominate. I will now describe the abnormal to see what light they throw upon the normal process. The data are taken from the following species:

<i>Leiostemones</i>	<i>Tulipa Clusiana</i>	2 x	<i>Hyacinthus orientalis</i>	3 x varieties
	<i>T. stellata</i>	2 x	<i>Amaryllis Belladonna</i>	2 x
	<i>T. Eichleri</i>	2 x	<i>Ruscus aculeatus</i>	2 x
	<i>T. lanata</i>	3 x	<i>Tradescantia virginiana</i>	3 x
	<i>T. praecox</i>	3 x		
<i>Eriostemones</i>	<i>T. silvestris</i>	4 x		
	<i>T. Whittalli</i>	4 x		

2. Upset of Timing.

In most polyploids but especially in triploids there is some range of variation of chromosome length in different pollen-grains. We find it in triploid tulips (Fig. 2), in triploid hyacinths (Fig. 3), in a triploid *Fritillaria pudica* (DARLINGTON, 1936), in a triploid *Narcissus* (HEPPELL, unpub.) and especially in triploid forms of *Tradescantia* where it has been recorded several times (DARLINGTON, 1929, 1937; SAX, 1937 b). These variations are not due to fixation since chromosomes of very different lengths can be found on the same slide. They are distinct again

from the abrupt change of size found in all the cells of one flower of *Tradescantia brevicaulis* (DARLINGTON, 1929), or from the maternally controlled reduction of size that distinguishes the pollen-grains of the pentaploid *Tulipa Clusiana* from those of its diploid and tetraploid relatives (UPCOTT and PHILP, 1939). They are differences in the degree of spiralisisation of the chromosomes, not differences in volume. They may be due to differences in the rate or in the duration of the process. In either case they must be the expression of particular and individual genotypes produced as a result of segregation at the preceeding meiosis. That these variations from cell to cell express themselves more generally



Fig. 1 a—c. Metaphase from pollen-grain divisions in diploid species of *Tulipa*, showing the chromosomes arranged round the edge of the spindle ($\times 1600$). a and b were fixed in acetic alcohol and stained in Feulgen. c was smeared in 2 BE and stained in Gentian Violet.

in triploids than in tetraploids or higher polyploids is to be expected from the more variable balance of these pollen-grains.

There is another abnormality which again must be the result of unbalance but which is characteristic of the two tetraploids examined. This is the formation of the hollow spindle. The plate takes the form which has often been regarded as confined to animal mitosis alone: the chromosomes lie round the edge of the plate with their centromeres towards the centre and their free arms outwards.

It occurs in diploids and triploids (Fig. 1 and 2) but only rarely and unassociated with any gross deviations from normality, although in the triploids it is usually found in cells having the more strongly contracted chromosomes.

In the tetraploids, however, it is common and more extreme (Fig. 4 and 5). Here the chromosomes are very much more contracted than usual. Often one or more chromosomes fail to be included on this anomalous plate and lie to one side apparently in the cytoplasm (Fig. 4b). In *Tulipa silvestris* we can trace all degrees of hollowness from what has been regarded as characteristic of plants, to the opposite extreme found in animals (Fig. 6, a—f). With this variation is associated a variation

in degree of spiralisisation, the more extremely hollow spindles having more extremely spiralsised chromosomes. This is contrary to what is found in *Fritillaria pudica* (DARLINGTON, 1936, IV, Fig. 9c), but the same

as in triploid *F. latifolia* (DARLINGTON unpub.).

The condition of forming a hollow or central spindle is therefore not absolutely distinguished from that of the solid spindle. We may then assume that these differences of normal behaviour are attributable to differences in the strength of polar repulsion or to differences in distance apart of the spindle poles. I have already shown (1936) in pollen-grains, in pollen-tubes and in root-tips, how the shape and size of the cell modifies the

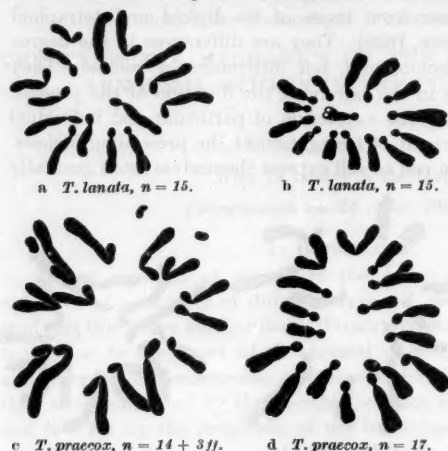


Fig. 2 a—d. Hollow spindles in triploid species of *Tulipa* ($\times 1600$). The chromosomes show different degrees of spiralisisation.

shape of the spindle and the arrangement of the chromosomes on it. A further step in this modification will give us the completely hollow spindle of the pollen-grains of *Tulipa silvestris*. But we have not seen why the

spindle should be modified in this way. A consideration of two associated anomalies in the tetraploid species of *Tulipa* may help to explain it.

When the chromosomes are very much contracted the attraction which usually holds the two chromatids together until anaphase lapses during metaphase (Fig. 5 and 7). The

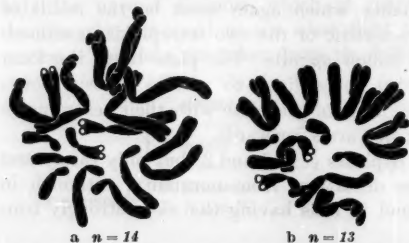


Fig. 3 a and b. Pollen-grain metaphases of a triploid variety of *Hyacinthus orientalis*, showing different degrees of spiralisisation ($\times 1600$).

two chromatids lie widely separated and the whole plate resembles an anaphase of the first meiotic division. KLINGSTEDT (1939) has shown that a lapse of attraction between sister chromatids is necessary for normal anaphase separation and finds that in species hybrids the attraction may

persist and prevent the separation from taking place. We now find the opposite abnormality in which the lapse occurs too early, associated with an exceptionally high degree of spiralisalation. This state of affairs is characteristic of meiosis, so we may perhaps call this aberrant type of division a semi-meiotic mitosis. We have long known forms of meiosis which resemble mitosis more closely than usual, for example, the long chromosome mutants in *Matthiola* (LESLEY and FROST, 1927), in *Secale* (LAMM, 1936), and in *Tradescantia* (DARLINGTON, 1937). We now find the converse, a form of mitosis which resembles meiosis more closely than usual.

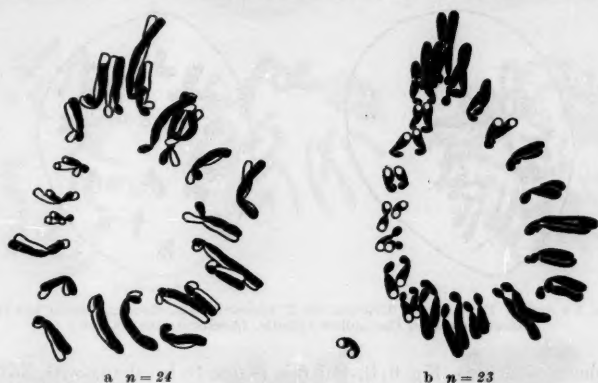


Fig. 4a and b. Extreme cases of the hollow spindle in *Tulipa silvestris*, $4\times (\times 1600)$. Some of the centromeres have divided but not all (cf. also Fig. 6, a-f).

The second associated anomaly is concerned with the division of the centromeres. In a normal mitosis, the end of metaphase and the beginning of anaphase is marked by the division of the centromeres, which is simultaneous in all the chromosomes. In these anomalous divisions, however, we find that anaphase has begun for some chromosomes, but not for all. Some of the centromeres divide earlier than others (Fig. 4 and 7, and DARLINGTON, 1936, IV, Fig. 9c). This failure of synchronisation provides a clue to what is behind these abnormalities. The timing relationships between the chromosome cycle and the spindle cycle are upset. We may regard the spindle as being too late or the chromosomes too early. The chromosomes have more time to contract. They therefore contract further. The spindle is not uniformly developed at the end of metaphase and so not all the centromeres are stimulated to divide. We find a similar lateness of the spindle at meiosis in the pollen-sterile *Lathyrus odoratus* (UPCOTT, 1937). Here again the chromosomes contract further than usual, and the bivalents separate at different times.

The failure of synchronisation in the time of division of the centromeres might seem to be of two different kinds, which however must depend on differences in degree. In the extreme case the timing may be entirely irregular and the spindle mechanism then breaks down altogether giving a jumbled mass of highly contracted chromosomes and chromatids (Fig. 7 b and c). In the less extreme case it is regular, the chromosomes on the edge of the plate dividing first (Fig. 6, g and h, and 8). The centromeres at anaphase then lie convexly on the arcs of circles. Separating chromosomes sometimes form a similar curve at the first



Fig. 5 a and b. Pollen-grain divisions in *T. silvestris*, 4x, showing similar but less extreme cases of the hollow spindle. (Acetocarmine, $\times 800$.)

anaphase of meiosis (Fig. 6, i), but this is due to bivalents with a single chiasma which lie on the edge of the spindle (FYFE, 1936), separating first.

Since the lack of synchronisation of the centromeres and the excessive contraction with its accompanying premature lapse of attraction may be explained as due to an upset in the timing relationships of the chromosomes and the spindle and since these abnormalities are, at least in these species, associated with the hollow spindle, it is legitimate to conclude that this too is the result of a disharmony in timing.

Further each abnormality with its comparable aberrant type of meiosis shows that parallel timing upsets during meiosis and mitosis produce parallel qualitative effects.

3. Asymmetry of the Spindle.

In most diploid organisms the position of the metaphase plate in the pollen-grain and the plane of division is pre-determined and invariable (GEITLER, 1935).

In polyploids with variable-number segregation or in diploids which have been subjected to abnormal treatment this position is variable (SAX, 1935, 1937 b). Its variability affects the later behaviour of the anaphase spindle. The asymmetry of the anaphase groups owing to

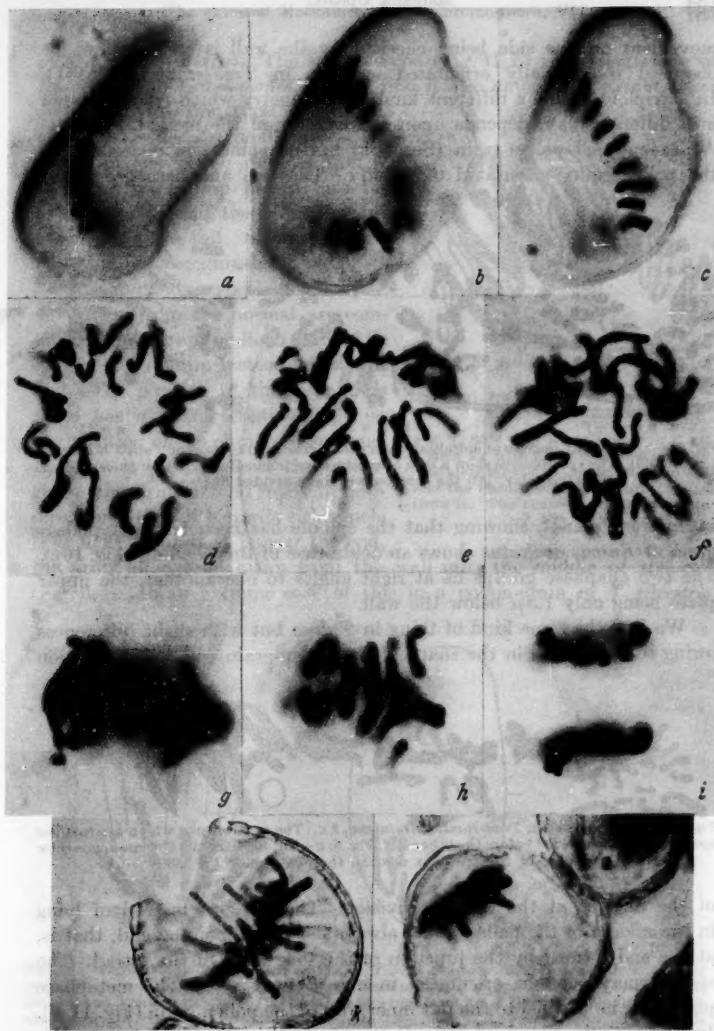


Fig. 6 a—l. a, b, c Metaphase of the pollen-grain division in *T. silvestris*, 4x, taken at three different foci, showing an extreme case of the chromosomes pushed to the edge of the plate forming a hollow spindle cf. Fig. 4. ($\times 900$). d, e, f Three metaphase plates from pollen-grains of *T. silvestris* showing different degrees of repulsion to the edge of the plate ($\times 900$). g, h Anaphase of the pollen-grain division in *T. praecox*, 3x, taken at two foci. The outer centromeres have separated furthest so that they form an arc. cf. Fig. 8 ($\times 900$). i Anaphase of the first meiotic division in *T. silvestris*, 4x, showing the same arrangement ($\times 900$). k, l Two side views of metaphase in pollen-grains of *T. praecox*, 3x. In the first the plate is in the middle of the cell and the chromosome arms project in either direction. In the second it is at one end and all the arms project towards the centre of the cell ($\times 720$). (d, e, f, k and l were fixed in acetic alcohol and stained with Feulgen. The rest were fixed in 2 BE and stained in Gentian Violet.)

movement on one side being checked by the wall is commonly to be observed in normally orientated spindles in *Tradescantia* (Fig. 11). In a triploid, I find a different kind of asymmetry which again, though in a different way, depends upon the position of the metaphase plate. An exceptional pollen-grain (Fig. 10b) has its spindle in one corner of the pollen-grain, orientated diagonally. The two anaphase groups lie



Fig. 7a—c. Different degrees of spiralisations in pollen-grain metaphases of *Tulipa Whitalli*, $4\times$ ($\times 1600$). The centromeres show a lack of synchronisation in division. In c the anaphase is irregular. All the centromeres have divided but one.

in different planes, showing that the spindle has been bent. A pollen-grain of *Ruscus aculeatus* shows an acute case of this bending (Fig. 10c). The two anaphase groups lie at right angles to one another, the upper plate being only 1.5μ below the wall.

We find the same kind of thing in *Tulipa* but with slight differences owing to differences in the shape of the pollen-grain and to the position



Fig. 8. Early anaphase in *Tradescantia virginiana*, $3\times$. The centromeres which are furthest apart must have divided before the others (cf. Fig. 6, g—h). Some of the chromosomes show temporary constrictions next to the centromere ($\times 1600$).

of the nucleus at the time of division. The nucleus, instead of lying in the middle of the pollen-grain, always lies in the pointed end, that is, at the end formed by the junction of the four walls of the tetrad. The spindle may then be orientated in one of two ways. The metaphase plate may lie parallel to the flat inner wall of the pollen-grain (Fig. 11 E). In this case the anaphase groups separate in the same direction as they do in *Tradescantia*, the only difference being that the spindle is not in the middle of the pollen-grain. The stoppage asymmetry characteristic of *Tradescantia* at this stage is often, though not regularly, visible. This type of orientation is found only among the sub-group *Eriostemon*

of the genus *Tulipa*. The second type (Fig. 11 L) is characteristic of the sub-group *Leiolemones*, but we find it also among the *Eriosteles* along with the first type. The metaphase plate lies diagonally across the corner of the pollen-grain so that at anaphase one group passes into the extreme point and the other towards the centre of the cell. Stoppage asymmetry is not recognizable here.

In polyploids, especially triploids, deviations from the normal are common. The plate may lie in the middle of the pollen-grain instead of at one end. The position of the metaphase plate has a characteristic effect on the position of the chromosome-arms. If it lies in the middle of the pollen-grain, the arms extend freely in both directions, that is towards either pole (Fig. 6, k). But if it is near the end, the arms all extend away from the wall into the middle of the cell (Fig. 6, l). In an extreme case of this in a pollen-grain of *T. silvestris*



Fig. 9. Side view of metaphase in *T. silvestris*, 4 x, with 23 chromosomes ($\times 1600$). The plate is close to the pollen-grain wall and the chromosome arms are repelled from it. The centromeres form an arc (cf. Fig. 6, k).

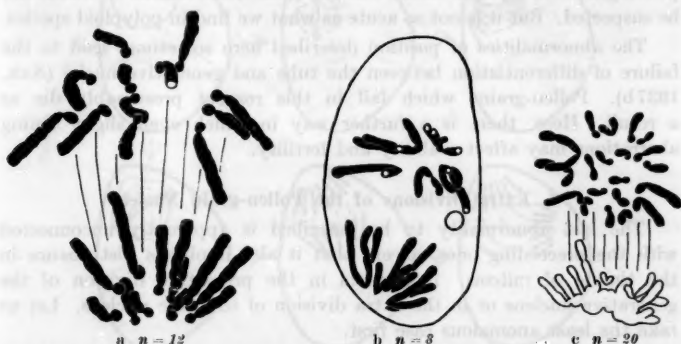


Fig. 10 a-c. Bent spindles in pollen-grains. a *Tulipa Clusiana*, 2 x. The spindle is slightly bent. The lower anaphase lies in the pointed end of the pollen-grain. cf. Fig. 11, L. (Acetic alcohol and Feulgen. $\times 1600$.) b *Tradescantia virginiana*, 3 x. Here the spindle is orientated in an abnormal position in the pollen-grain ($\times 1200$). c *Ruscus aculeatus*. The spindle is bent so that the two anaphase groups are at right angles. The upper plate is 1.5μ below the wall ($\times 1600$).

(Fig. 9), the metaphase plate lies exceptionally close to the wall. The chromosome-arms which in this case are not over-contracted, all lie towards the centre of the pollen-grain as though they had been repelled

from the wall. The centromeres lie on a hemispherical plate. The arrangement resembles that of an anaphase group with the pole near the wall, or of a unipolar metaphase, both of which would depend on a closer relationship with one pole than with the other. An anaphase recognizably following this arrangement has not been seen.

It is of course possible that this curiously uniform direction of the free arms is due, not to a repulsion from the wall, but to a movement of the whole nucleus towards the wall from the centre of the grain. Since both the examples described are in polyploids where the position of the nucleus is variable, we cannot exclude this possibility.

The second type of anaphase asymmetry, that which is due to the spindle bending, is found in *Tulipa* also (Fig. 10a), but only where the spindle is orientated diagonally across the end of the pollen-grain (Fig. 11 L). Presumably it could also be derived from the other type, but more especially perhaps if the plate lay in an intermediate position.

Bending of the spindle at meiosis is characteristic of a timing disharmony between the chromosome and spindle cycles. It usually occurs in hybrids where few bivalents are formed, for the univalent centromeres are later in dividing than the bivalent centromeres would be in separating. That the same bending should be found in pollen-grains suggests that there is a disharmony in timing here also. It is present even in the pollen-grains of diploids where but for these observations it would not be suspected. But it is not so acute as what we find in polyploid species.

The abnormalities of position described here sometimes lead to the failure of differentiation between the tube and generative nuclei (SAX, 1937b). Pollen-grains which fail in this respect presumably die as a result. Here, then, is a further way in which even slight timing aberrations may affect viability and fertility.

4. Extra Divisions of the Pollen-grain Nuclei.

The last abnormality to be described is apparently unconnected with the preceding ones, except that it also implies a disturbance in the timing of mitosis. It consists in the premature division of the generative nucleus or in the extra division of the tube nucleus. Let us take the least anomalous case first.

In the Gramineae and probably in some other groups, the generative nucleus normally divides to form the two sperm nuclei while still in the pollen-grain, and before it is shed. In other Angiosperms, the division does not occur until the pollen has been shed and germinated, when it takes place in the tube. In either case this second division takes place some time after the first.

Anomalies in the behaviour of the generative nucleus in *Tulipa* are of two kinds. In the first, the division takes place at the right time but

in the wrong place. In polyploid tulips, a proportion of apparently good grains not infrequently fail to germinate, and in some of these I have observed the division taking place inside the grain (URCOTT, 1936). This behaviour forms a link with what we find in the Gramineae.

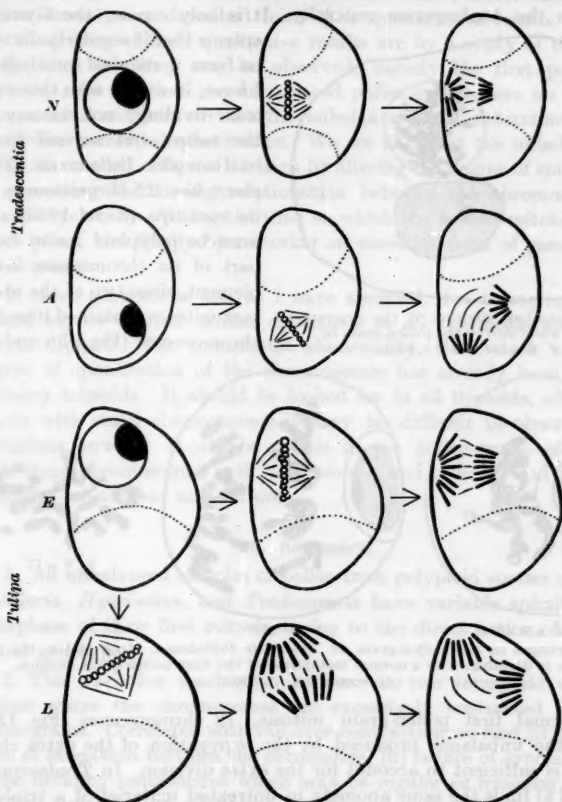


Fig. 11. Diagram showing the orientation of the spindle in pollen-grains of *Tradescantia* and *Tulipa*. The flat wall on the left-hand side of each pollen-grain is the inner wall of the tetrad. The dotted lines indicate the position of the vacuoles. *N* = normal, *A* = abnormal, *L* = Lelostemones, *E* = Eriostemones. The bent spindle in *Tulipa* (Fig. 10) might also arise if the metaphase plate lay halfway between the two usual positions.

In the second, the division takes place at the wrong time as well as in the wrong place. Preparations showing the first pollen-grain division of a triploid, *T. praecox*, also show isolated pollen-grains in which the generative nucleus is dividing (Fig. 12). SAX (1937a) has

produced the same anomaly in a diploid *Tradescantia* by heat treatments. Here it occurs under natural conditions.

The extra division of the tube nucleus, on the other hand, is a more extreme deviation from the normal behaviour, since this nucleus is inactive in the Angiosperms generally. It is only among the Gymnosperms that it regularly divides to form a reduced prothallus.

I have, however, seen this nucleus dividing, not in any of the tulips, but several times in *Amaryllis Belladonna*. This plant has 22 chromosomes in its root-tips (SATO, 1938) and must be polyploid for at least part of its chromosome complement, since two of the aberrant mitoses contained 10 and 11 chromosomes (Fig. 13a and b),

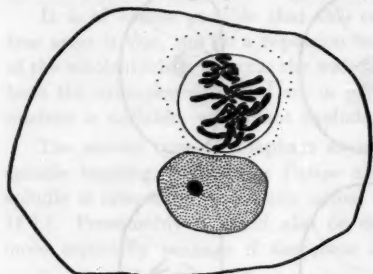


Fig. 12. Anomalous division of the generative nucleus while still in the pollen-grain in *T. praecox*, $3 \times (\times 800)$.

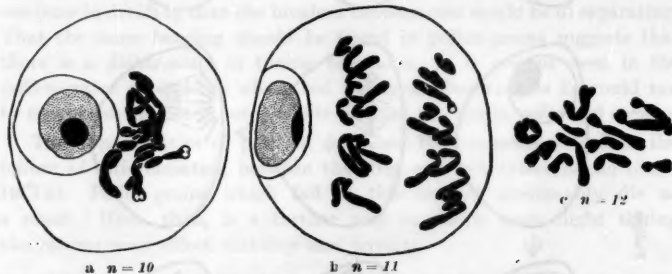


Fig. 13. Divisions in the pollen-grain of *Amaryllis Belladonna*. In a and b the tube nucleus is dividing. c is a normal metaphase of the first pollen-grain division. (Acetocarmine, $\times 800$.)

and a normal first pollen-grain mitosis, 12 chromosomes (Fig. 13c). Possibly the unbalance produced by the segregation of the extra chromosomes is sufficient to account for the extra division. In *Tradescantia*, SAX (1937b) finds the same anomaly in untreated material of a triploid, again with unbalanced pollen-grains, and, like the premature division of the generative nucleus, it can be induced in the diploid by heat treatment (SAX, 1935).

Here then are a group of cases which taken together with GAIRDNER's discovery (1933) of spermatozoa in the sporangia of ferns, show that what is regarded as a fundamental distinction in systematics can be broken down by unbalance produced by extra chromosomes, by abnormal conditions or even by the action of a single gene.

5. Conclusion.

The effects of segregation, loss of laggards and selection of favorable genotypes in the pollen-grain or in the progeny resulting from them, have already been described (UPCOTT and PHILP, 1939). These qualitative causes were described from their quantitative results. We now see what some of their qualitative results are by a study of the earliest stage at which they can be observed, namely the first pollen-grain division. We see that the unbalanced pollen-grains have no particular chromosome number, so that the unbalance is not determined by any particular numerical constitution. We see also that the unbalance may affect the normal course of division by altering the degree of spiralisiation, by upsetting the timing relationships between the chromosome and spindle cycles, by altering the time at which the second mitotic division takes place, and finally by restoring an ancestral form of gametophytic development.

If these aberrations are, as I have assumed, due to segregation, we should expect to find similar deviations in all polyploids and also in hybrid diploids. The commonest abnormality, that which affects the degree of spiralisiation of the chromosomes has already been observed in many triploids. It should be looked for in all triploids, although in plants with small chromosomes it may be difficult to observe. Such variations however should be visible in the pollen-grains of triploids with large chromosomes such as *Paeonia*, and *Allium*, and in hybrid diploids of *Narcissus* and *Lilium*.

6. Summary.

1. All unbalanced samples of pollen from polyploid species of *Tulipa*, *Fritillaria*, *Hyacinthus*, and *Tradescantia* have variable spiralisiation at metaphase of their first mitosis, owing to the direct action of the individual genotype.

2. This variation reaches an extreme in two tetraploid species of *Tulipa* where the chromosomes are excessively contracted in certain pollen-grains. Correlated with the over-contraction we find (i) premature lapse of attraction between the chromatids, (ii) failure of synchronisation of the dividing centromeres which may be regular or irregular in effect, and (iii) formation of a hollow spindle.

3. Two forms of asymmetry occur in the anaphase spindle of the pollen-grain: (i) the one-sided arrest of movement and (ii) the bending of a long spindle. They are probably both due to the metaphase plate forming near the pollen-grain wall.

4. Exceptionally in *Tulipa* the generative nucleus may divide in the pollen-grain instead of in the pollen-tube. In *Amaryllis*, the vegetative nucleus may divide a second time. This behaviour is a

step away from the Angiosperm type and in the direction of the Gymnosperm type.

Bibliography.

- Darlington, C. D.:** Chromosome Behaviour and Structural Hybridity in the *Tradescantiae*. J. Genet. **21**, 207—286 (1929). — The External Mechanics of the Chromosomes, I—V. Proc. roy. Soc. Lond. B **121**, 264—319 (1936). — Chromosome Behaviour and Structural Hybridity in the *Tradescantiae*, II. J. Genet. **35**, 259—280 (1937). — **Darlington, C. D. and P. T. Thomas:** The Breakdown of Cell-division in a *Festuca-Lolium* derivative. Ann. of Bot., N. s. **1**, 747—762 (1937). — **Fyle, J. L.:** The External Forces acting on Chromosomes. Nature (Lond.) **138**, 366 (1936). — **Gairdner, A. E.:** Sporangia containing spermatozooids in Ferns. Nature (Lond.) **131**, 621 (1933). — **Geitler, L.:** Beobachtungen über die erste Teilung im Pollenkern der Angiospermen. Planta (Berl.) **24**, 361—386 (1935). — **Klingstedt, H.:** Taxonomic and Cytological Studies on Grasshopper hybrids. I. J. Genet. **37**, 389—420 (1939). — **Lamm, R.:** Cytological Studies on inbred Rye. Hereditas (Lund) **22**, 217—240 (1936). — **Lesley, M. M. and H. B. Frost:** Mendelian Inheritance of Chromosome Shape in *Matthiola*. Genetics **12**, 449—460 (1927). — **Sato, D.:** Karyotype Alteration and Phylogeny, IV. Cytologia **9**, 203—242 (1938). — **Sax, K.:** The Effect of Temperature on Nuclear Differentiation in Microspore Development. J. Ann. Arb. **16**, 301—310 (1935). — The Effect of Variations in Temperature on Nuclear and Cell Division in *Tradescantia*. Amer. J. Bot. **24**, 218—225 (1937a). — Chromosome Behaviour and Nuclear Development in *Tradescantia*. Genetics **22**, 523—533 (1937b). — **Upcott, M.:** The Mechanics of Mitosis in the Pollen-tube of *Tulipa*. Proc. roy. Soc. Lond. B **121**, 207—220 (1936). — Timing Unbalance at Meiosis in the Pollen sterile *Lathyrus odoratus*. Cytologia, Fuj. Jub. Vol., 299—310. (1937a). — The Genetic Structure of *Tulipa*, II. Structural Hybridity. J. Genet. **34**, 339—398 (1937b). — **Upcott, M. and J. Philp:** The Genetic Structure of *Tulipa*, IV. Balance, Selection and Fertility. J. Genet. **38**, 91—123. (1939).

(Institute of Animal Genetics, University of Edinburgh.)

RELATIONAL COILING AND CHIASMA FREQUENCY.

By

L. CSIK¹ and P. C. KOLLER.

With 5 figures in the text.

(Eingegangen am 25. März 1939.)

Introduction.

It is generally accepted now that chromosomes consist of two chromatids during the prophase and metaphase of mitosis. The sister chromatids are held together till anaphase at the centromere (spindle attachment). A great number of observations in plants and animals has revealed the fact that the sister chromatids — if the chromosomes are long enough — are twisted round each other (cf. WILSON, 1925). This type of coiling of chromatids is described by C. D. DARLINGTON (1935) as *relational coiling*, and its existence is attributed to an internal or molecular coiling within the chromatids themselves. Besides the relational coiling of chromatids, DARLINGTON has also described the relational coiling of chromosomes, which consists of the twisting of the two homologous chromosomes round one another during pachytene of meiosis (DARLINGTON, 1937). An extensive analysis of the mechanical properties of chromosomal relational coiling has led him to assume that this type of coiling is one of the factors which determine the amount of crossing-over at the end of pachytene. According to DARLINGTON, forces of torsion are produced by the internal molecular coiling and by the relational coiling of chromosomes; these forces are in equilibrium until the reduplication of the homologous chromosomes. After that process, the disturbed equilibrium leads to a double breakage of partner chromatids at the same level; uncoiling takes place and it is followed by the reunion of broken ends in a new combination. A close relationship is assumed to exist between the amount of relational coiling of chromosomes and the amount of crossing-over, i. e. a greater number of coilings or twists corresponds to a higher number of cross-overs.

It is known that both paired chromosomes and pairs of sister chromatids have a tendency to coil round one another. Probably both processes depend on the development of internal or molecular spirals, and they are fundamentally the same phenomenon. A comparison of chiasma frequencies and of the amount of chromatid relational coilings may give us important information concerning the relationship between the two kinds of coiling. If the amount of relational coiling at mitotic prophase or metaphase per unit of chromosome length is greater in a species with

¹ Fellow of the Rockefeller Foundation.

higher chiasma frequency than in a species with a lower one, then one must assume that the causes underlying the development of chromatid and chromosome relational coiling are the same.

SAX (1936) found that the chiasma frequency in the "M" chromosome of *Vicia faba* is 2.63, and that in the *Tradescantia paludosa* it is 1.87. He also observed that sister chromatids of the "M" chromosome of *Vicia* coiled round each other to a greater extent than the chromatids of *Tradescantia*. Similar observations were reported by HUSTED (1938) in three other plant species. The data obtained by SAX and HUSTED strongly suggest that relational coiling at meiotic prophase, which is responsible for crossing-over, may be the same in origin and nature as the relational coiling of mitotic prophase. In order to furnish more evidence the present work was undertaken. Chiasma frequencies and the amount of relational coiling of chromatids were determined in five animal species and a comparison was made, based upon a statistical analysis of the observed data.

Material and Technique.

Chromosome behaviour was studied in the following species of locust:

Species	Place of origin	Chromosome number
<i>Schistocerca gregaria</i> . . .	London	22 + X
<i>Schistocerca paranensis</i> . .	Argentina	22 + X
<i>Locusta migratoria</i> . . .	London	22 + X
<i>Locusta migratoria</i> . . .	Portugal	22 + X
<i>Metrioptera tesellata</i> . . .	Portugal	30 + X

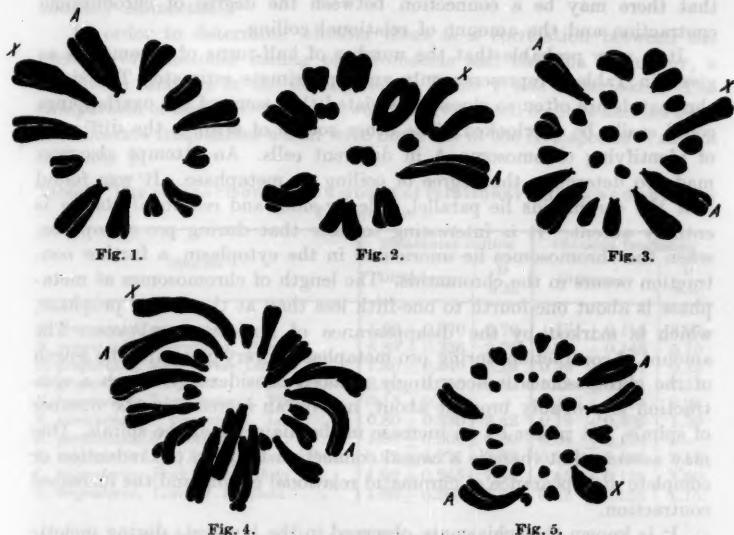
The author wishes to express his sincere gratitude to Dr. B. P. UVAROV, Imperial Institute of Entomology, British Museum, London; to Professor A. DE SOUSA DA CAMARA, of Portugal; and to Dr. F. A. SAEZ, La Plata, Argentina, for the material which they kindly supplied.

The testes were fixed in Medium Flemming fixative solution and embedded in paraffin wax. Sections were cut 20μ thick and stained with gentian violet. The drawings were made with the aid of a Zeiss camera lucida, using .90 n. a. oil-immersion objective and $15\times$ comp. eyepiece.

Relational coiling and chiasma frequency.

The chromosomes of the five species exhibit a range of variation in respect of size: there are large, medium-sized and small dot-like chromosomes (figs. 1, 2, 3, 4 and 5). The amount of relational coiling of chromatids is determined only in the largest pair of chromosomes, designated as A. This chromosome pair can easily be distinguished at the spermatogonial metaphase in *Metrioptera*; in *Schistocerca paranensis* and *Locusta migratoria* (Portugal) its identification is more difficult. It was found that the degree of contraction which determines the length of chromosomes is less in the spermatogonial than in the pre-spermatogonial division. This reduced contraction or spiralization is specially clearly marked in the chromosomes of *Locusta migratoria* (Portugal). Similar observations were made by WHITE (1935) in other species of Locustidae.

The number of half-turns, or overlappings, of sister chromatids of chromosome A was counted at the end of prophase in the spermatogonial cells. At this stage the nuclear membrane has already disappeared and the chromosomes lie more or less scattered in the cytoplasm. The number of chromatid relational coils in chromosome A was determined in about



Figs. 1—5. Haploid chromosome set of *Schistocerca gregaria* (fig. 1), and *Schistocerca paranensis* (fig. 2). Mitotic metaphase in the spermatogonial cells of *Locusta migratoria*, London (fig. 3), of *Locusta migratoria*, Portugal (fig. 4) and *Metrioptera tesellata* (fig. 5). Chromosome A and the sex chromosome are indicated.

twenty-five spermatogonial prophases. The average number of coils is given in Table 1. The table includes the approximate length of chromosome A in the five species. The measurements were taken at metaphase

Table 1. The length, number of relational coilings and chiasmata in chromosome A of five different species.

Species	Length of chromosome A in μ	Number of relational coilings	Average chiasma frequency
<i>Schistocerca gregaria</i> (London)	5.5	$5.84 \pm .269$	3.49 ± 1.26
<i>Schistocerca paranensis</i> (Argentine) . .	6.5	$4.84 \pm .256$	2.32 ± 0.073
<i>Locusta migratoria</i> (London)	5—5.5	$4.96 \pm .187$	2.74 ± 0.076
<i>Locusta migratoria</i> (Portugal)	7.	$4.04 \pm .204$	2.50 ± 0.077
<i>Metrioptera tesellata</i> (Portugal)	4.5	$3.04 \pm .158$	2.28 ± 0.100
total		22.72	13.33

of the spermatogonial division. It is clear that there is no direct proportionality between chromosome-length and the amount of relational coiling. While in *Locusta migratoria* (Portugal) the length of chromosome A is 7μ , the longest in the five species, the number of relational coils is the smallest excepting that in *Metrioptera*. This fact suggests that there may be a connection between the degree of chromosome contraction and the amount of relational coiling.

It is very probable that the number of half-turns of chromatids as given in Table 1 represents only an approximate estimate. The sister chromatids are often so closely associated that some of the overlappings could easily be overlooked. The other source of error is the difficulty of identifying chromosome A in different cells. An attempt also was made to determine the degree of coiling at metaphase. It was found that the chromatids lie parallel, side by side, and relational coiling is entirely absent. It is interesting to note that during pro-metaphase, when the chromosomes lie unoriented in the cytoplasm, a further contraction occurs in the chromatids. The length of chromosomes at metaphase is about one-fourth to one-fifth less than at the end of prophase, which is marked by the disappearance of nuclear membrane. The amount of contraction during pro-metaphase is very great and the length of the chromosomes is accordingly reduced considerably. Such a contraction is probably brought about, not by an increase in the number of spirals, but rather by an increase in the diameter of the spirals. One may assume that there is a causal connection between the reduction or complete disappearance of chromatid relational coiling and the increased contraction.

It is known that chiasmata observed in the bivalents during meiotic prophase are the result of crossing-over, *i. e.* an exchange between partner chromatids. The chiasmata at the beginning of diplotene more or less represent the loci of exchange. During late diplotene, diakinesis and metaphase, however, the chiasmata very frequently are moved along the chromosomes towards the distal ends; consequently they do not represent the actual point of exchange. It was found that the degree of terminalization is very slight in the five species of locusts and one may assume that the number of chiasmata at the mid-diplotene stage of meiosis probably corresponds more or less to the initial number of exchanges between the partner chromatids.

The average chiasma frequency of bivalent A was determined by counting the number of chiasmata in fifty nuclei of primary spermatocytes. The data given in Table 1 indicate the absence of direct proportionality between chromosome length and the number of chiasmata. Chromosome A of *Schistocerca gregaria* is 5.5μ long and has an average chiasma frequency of 3.49: chromosome A of *Locusta migratoria* (Portugal) is 7μ long, but has only 2.5 chiasmata. A comparison of the two *Locusta*

species from different localities shows that there are significant differences between them which concern (1) the degree of contraction during the prophase of spermatogonial division, (2) the amount of relational coiling of chromatids and (3) the number of chiasmata. The mechanical basis of all these differences may be fundamentally the same and they are causally connected.

In order to determine whether there is a correlation between the amount of relational coiling of chromatids and chiasma frequency, a statistical analysis of the data given in Table 1 was undertaken. The comparison of the differences, between the relational coilings and between the chiasma frequencies which were observed in the five species is shown in Table 2.

Table 2. The comparison of the amount of relational coiling and chiasma frequencies.

Species	Relational coiling		Chiasma frequency	
	Difference	D S.E.	Difference	D S.E.
<i>S. gregaria</i> / <i>S. paranensis</i>	1.00 ± 0.370	2.70	1.17 ± 0.145	8.07
<i>S. gregaria</i> / <i>L. migratoria</i> , Port.	0.88 ± 0.326	2.70	0.75 ± 0.148	5.10
<i>S. gregaria</i> / <i>L. migratoria</i> , Lon.	1.80 ± 0.340	5.29	0.99 ± 0.147	6.73
<i>S. gregaria</i> / <i>M. tessellata</i>	2.80 ± 0.310	9.03	1.21 ± 0.161	7.51
<i>S. paranensis</i> / <i>L. migratoria</i> , Port.	0.10 ± 0.320	—	0.415 ± 0.104	3.98
<i>S. paranensis</i> / <i>L. migratoria</i> , Lon.	0.80 ± 0.330	2.42	0.18 ± 0.106	1.70
<i>S. paranensis</i> / <i>M. tessellata</i>	1.80 ± 0.300	6.00	0.04 ± 0.124	—
<i>L. migratoria</i> Lon./ <i>L. migratoria</i> , Port.	0.92 ± 0.277	3.32	0.236 ± 0.108	2.17
<i>L. migratoria</i> , Port./ <i>M. tessellata</i>	1.92 ± 0.245	7.84	0.45 ± 0.126	3.60
<i>L. migratoria</i> , Lon./ <i>M. tessellata</i>	1.00 ± 0.260	3.85	0.22 ± 0.126	1.75

The analysis shows that there is no significant difference in the amount of relational coiling per unit of chromosome length between *Schistocerca paranensis* and *Locusta migratoria*, while the difference in chiasma frequency is significant between these species. It is also of interest to note that the two *Schistocerca* species differ very slightly in respect of relational coiling; the average chiasma frequency of bivalent A on the other hand exhibits a very definite difference. The species of *Locusta* from two localities exhibit statistically significant differences in both the amount of relational coiling per unit of chromosome length and the number of chiasmata.

The coefficient of correlation between relational coiling and chiasma frequency was calculated on the data given in Table 1; the following formula, given by GOULDEN (1937) was employed¹:

$$r_{xy} = \frac{\Sigma(xy) - T_x T_y / N}{\sqrt{[\Sigma(x^2) - T_x^2 / N][\Sigma(y^2) - T_y^2 / N]}} = 0.7943.$$

The coefficient of correlation is rather high, which indicates that a greater amount of relational coiling of chromatids corresponds to a higher

¹ In this formula x is the number of relational coilings, y is the number of chiasma frequencies, T_x is the sum of x, T_y the sum of y.

number of chiasmata. Since the number of pairs is very small, the "t" test was carried out (FISHER, 1936, p. 196) in order to determine the significance of the coefficient of correlation, and it was found that

$$\begin{aligned}\sqrt{1-r^2} &= 0.6075 \\ \sqrt{n^2-2} &= 1.732 \\ t &= \frac{0.7943 \times 1.732}{0.6075} = 2.262646\end{aligned}$$

$$d. f. = 3.$$

P is about 0.11. This value is very near to that which would indicate that the coefficient of correlation is significant.

Conclusions.

The amount of relational coiling of chromatids during the prophase of mitosis and the average number of chiasmata were determined in the largest chromosome of five species of locusts. The statistical analysis of the data obtained suggests that probably there is a correlation between the amount of relational coiling per unit of chromosome length and the number of chiasmata. A similar suggestion was put forward by SAX (1936) and HUSTED (1938), which was based upon observations made in different plant species. Though the difficulties encountered during the present cytological analysis of the chromosome structures, as well as the small number of species investigated, do not allow us to draw a definite conclusion, nevertheless it seems probable from our data that a greater degree of relational coiling of chromatids during mitosis is accompanied by a higher chiasma frequency during meiosis. The correlation furthermore indicates also that the physical basis of the tendency of chromatids, and that of paired chromosomes, to twist round one another relationally may be the same.

Literature cited.

- Darlington, C. D.: The internal mechanics of the chromosomes. I. The nuclear cycle in *Fritillaria*. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B 118, 33-59 (1935). — Recent advances in cytology, 2nd Ed., 1937. — Fisher, R. A.: Statistical methods for research workers. London 1936. — Goulden, C. H.: Methods of statistical analysis. Minneapolis 1937. — Husted, L.: Relational Coiling in *Tradescantia*, *Allium* and *Vicia Faba*. Cytologia 8, 368-376 (1938). — Sax, K.: Chromosome coiling in relation to meiosis and crossing over. Genetics 21, 324-338 (1936). — White, M. J. D.: The effects of X-rays on mitosis in the spermatogonial divisions of *Locusta migratoria* L. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B 119, 61-84 (1935). — Wilson, E. B.: The cell in development and heredity, 3rd Ed. New York: Macmillan 1925.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Wien und der Biologischen Station Lunz).

DAS HETEROCHROMATIN DER GESCHLECHTSCHROMOSOMEN BEI HETEROPTEREN.

Von

LOTHAR GEITLER, Wien.

Mit 21 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. Februar 1939.)

Inhaltsübersicht.

	Seite
1. Einleitung	197
2. Material und Methodik	198
3. <i>Lygaeus saxatilis</i> (Lygaeidae)	198
a) Meiose S. 199. — b) Somatische Kerne S. 200.	
4. <i>Palomena prasina</i> (Pentatomidae-Pentatominae)	206
a) Meiose S. 206. — b) Somatische Kerne S. 207.	
5. <i>Eurydema dominulus</i> (Pentatomidae-Pentatominae)	210
a) Meiose S. 210. — b) Somatische Kerne S. 212.	
6. <i>Eurydema oleraceum</i>	213
7. <i>Eurydema ventrale</i> (ornatum auct.)	214
8. <i>Picromerus bidens</i> (Pentatomidae-Asopinae)	214
a) Meiose S. 214. — b) Somatische Kerne S. 214.	
9. Andere Pentatomiden	215
10. <i>Lygus pratensis</i> (Capsidae)	218
a) Meiose S. 218. — b) Somatische Kerne S. 218.	
11. <i>Lygus innotatus</i>	219
12. <i>Macrotylus quadrilineatus</i> (Capsidae)	219
13. <i>Sigara (Callicorixa) carinata</i> (Corixidae)	221
14. <i>Syromastes marginatus</i> (Coreidae)	223
15. Allgemeines	224
16. Zusammenfassung	228
Literatur	229

1. Einleitung.

In einer Reihe früherer Untersuchungen wurde der Aufbau der somatischen Kerne einiger Heteropteren näher analysiert (GEITLER 1937, 1938, 1939). Es ließ sich dabei feststellen, daß 1. die Chromosomen im Ruhekern distinkt erkennbar erhalten bleiben, 2. daß die Kerne bestimmter Gewebe polyploid — und zum Teil sehr hoch polyploid — sind, 3. daß die Polyploidie durch Endomitosen, d. h. durch wiederholte Chromosomenteilung ohne Spindelbildung und ohne Kernteilung entsteht, 4. daß die Geschlechtschromosomen in bestimmten Fällen in den somatischen Kernen heterochromatisch sind.

Diese an verhältnismäßig wenigen Arten gewonnenen Erkenntnisse machen eine Bestätigung auf breiterer Grundlage wünschenswert. Die

bisher erst an *Gerris lateralis* eingehend beschriebene Endomitose (GEITLER 1939b) wird nochmals an *Lygaeus saxatilis* geschildert; für die anderen Arten, die sich im wesentlichen gleich verhalten, kann auf eine besondere Darstellung verzichtet werden. In der folgenden Mitteilung wird vor allem der Begriff des Heterochromatins (HEITZ 1928)¹ im Hinblick auf das Verhalten der Y-Chromosomen näher behandelt. Um zu lange Wiederholungen zu vermeiden, ist der Inhalt der eingangs genannten Untersuchungen als im wesentlichen bekannt vorausgesetzt.

2. Material und Methodik.

Herkunft des Materials und fortpflanzungsbiologische Angaben werden bei den einzelnen Arten angeführt. Die hauptsächlichsten Sammelorte waren die Umgebung des Wörthersees in Kärnten und die Umgebung der Biologischen Station in Lunz (Nieder-Donau). Soweit an beiden Orten die gleichen Arten gefunden wurden, war zu bemerken, daß sie entsprechend den wesentlich ungünstigeren klimatischen Bedingungen in Lunz um 3–4 Wochen in der Entwicklung zurück waren (dies gilt für *Palomena prasina*, *Picromerus bidens*, *Pentatoma rufipes* und *Syromastes marginatus*)².

Als standardisierte Untersuchungsmethoden kamen folgende in Betracht: 1. Ausstriche oder Zupfpräparate wurden nach Alkohol-Eisessigfixierung mit Karminessigsäure (abgekürzt KES) gefärbt, über Alkohol-Eisessig und absolutem Alkohol in Venezianischem Terpentin eingebettet; 2. Ausstriche oder Zupfpräparate wurden nach FLEMMING-BENDA-Fixierung und GRAMscher Gentianaviolettgefärbung über Alkohol und Xylol in Kanadabalsam eingebettet; 3. aufgeschnittene Tiere wurden in Alkohol-Eisessig fixiert und in 96%igem Alkohol aufbewahrt, nach Bedarf über Alkohol-Eisessig in KES gebracht und darin untersucht. Die absoluten Größen der Kerne und Chromosomen sind je nach dem Verfahren verschieden, was bei Betrachtung der Abbildungen zu berücksichtigen ist: am kleinsten sind sie nach FLEMMING-BENDA-Fixierung, am größten bei Untersuchung in KES, mittelgroß in Venezianischem Terpentin.

Die Abbildungen sind bei gleicher Vergrößerung wie die der früheren Mitteilungen entworfen und daher mit ihnen leicht vergleichbar.

Das Verhältnis der Volumina verschiedener Kerne ist aus den Bildprojektionen nicht immer richtig ersichtlich, da die Gestalten verschieden sein können; hieraus erklärt sich auch die scheinbar verschiedene Größe von Kernen gleicher Polyploidiestufe.

3. *Lygaeus saxatilis* (Lygaeidae).

Untersucht wurden Imagines und Larven des letzten Stadiums, die im September auf Wiesen bei Lunz in großen Mengen auftraten. Die Tiere kopulierten nicht, überwintern also offenbar und paaren sich erst im nächsten Frühjahr. Die Spermatogenese ist bereits in den Larven des letzten Stadiums im Gang; diese Larven sind besonders für die Verfolgung der Entwicklung der Hodenseptenkerne geeignet.

¹ Zusammenfassung bei HEITZ 1935.

² Bestimmungen und Revisionen verdanke ich Herrn Doz. Dr. W. KÜHNELT.

a) *Meiose*. Der Ablauf der Meiose ist der gleiche wie bei den klassischen, von WILSON untersuchten Arten¹. Auch die Chromosomenzahl ist die gleiche, nämlich $n = 6 + X(Y)$.

In der I. Metaphase liegen die Autosomen peripher, im Zentrum befinden sich nebeneinander, aber ungepaart, das X- und Y-Chromosom (Abb. 1b). In der I. Anaphase verhalten sich X und Y äquationell; in der II. Metaphase liegen ihre Chromatiden gepaart im Zentrum der

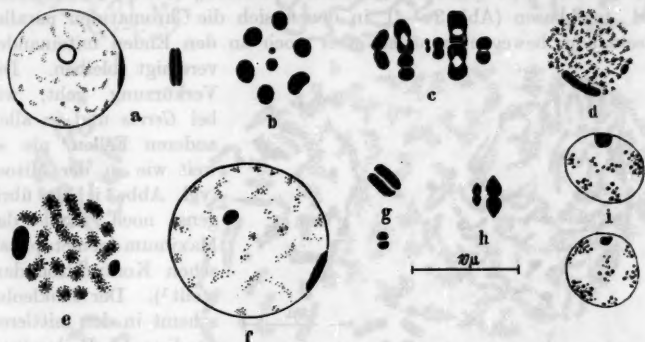


Abb. 1a–i. *Lygacus saxatilis*, ♂. a diffuses Stadium, links Y-, rechts X-Chromosom im Profil; rechts daneben ein X-Chromosom aus einem eben solchen Kern im Flächenbild (längsgespalten). b I. Metaphase, im Zentrum X und Y. c Seitenansicht einer etwas gedrückten I. Metaphaseplatte. d Leptotän mit X und Y. e mittleres Pachytän. f wie a. g X und Y in der frühen Diakinese, h in der I. Metaphase in Seitenansicht. i Spermatiden mit X und Y. Ausstriche. a–c Flemming-Benda. d–i Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

Platte und werden in der Anaphase reduktionell getrennt. Die Nebeneinanderlagerung der Geschlechtschromosomen in der I. Metaphase erfolgt erst während des Einrückens der Chromosomen in den Äquator; vorher, also bis einschließlich der Diakinese, liegen sie getrennt, oft auch einander gegenüber bzw. nehmen beliebige Lagen zueinander ein, befinden sich aber immer peripher (Abb. 1a, d, f). Sie sind niemals, wie bei *Palomina* u. a., in der Prophase „gepaart“ und verklumpt. Das an seiner geringen Größe leicht erkennbare Y-Chromosom zeigt auch in den spermatogonialen Mitosen periphere Lagerung (Abb. 3i und Abb. 6f).

Zwischen den Geschlechtschromosomen und dem Nukleolus besteht keine bestimmte Lagebeziehung; sie sind also nicht, wie bei einigen der später behandelten Arten, SAT-Chromosomen².

¹ Für die Nachweise der älteren Literatur sei hier wie im folgenden auf die Zusammenstellung DEPDOLLAS und BRESSLAUS verwiesen.

² Als SAT-Chromosomen seien der Kürze des Ausdrucks zuliebe die Nukleolen „bildenden“ Chromosomen bezeichnet, gleichgültig ob sie einen Trabanten (Satelliten) besitzen oder nicht.

b) *Somatische Kerne*. Die Zellkerne verschiedener Gewebe und zum Teil des gleichen Gewebes in verschiedenen Abschnitten zeigen auffallende Größenunterschiede. Die Ursache ist Polyploidie, die durch Endomitosen zustande kommt. Der Ablauf der Endomitosen läßt sich, wie bei *Gerris* (GEITLER 1939b) am leichtesten an den flachen Kernen der Hodensepten verfolgen; diese Kerne werden im allgemeinen bis 16-ploid (Abb. 2). Die Phasen laufen in allem wesentlichen gleich wie bei *Gerris* ab (Abb. 3); besonders auffallend sind die Endoana- und -telophasen (Abb. 3c—f), in denen sich die Chromatiden parallel auseinander bewegen, zunächst aber noch an den Enden miteinander

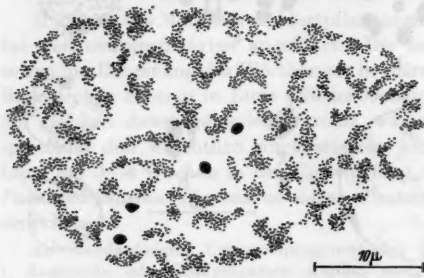


Abb. 2. *Lygaeus saxatilis*, ♂. 16-ploider Hodenseptenkern im Oberflächenbild; von den 8 vorhandenen Y-Chromosomen sind 4 sichtbar. Ausstrich, Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

vereinigt bleiben. Die Verkürzung geht, wie bei *Gerris* und in allen anderen Fällen, nie so weit wie in der Mitose (vgl. Abb. 3i, die übrigens noch nicht das Maximum der metaphasischen Kontraktion darstellt¹). Der Nukleolus scheint in den mittleren Stadien der Endomitose an Volumen abzunehmen, aber nie ganz zu verschwinden.

Die Polyploidiestufe läßt sich an den Hodenseptenkernen auf zwei Wegen erkennen: 1. durch die Auszählung der Chromosomen bzw. Chromatiden in den mittleren Stadien der Endomitose, 2. durch die Auszählung der Y-Chromosomen, die in günstigen Fällen infolge ihrer somatischen Heterochromasie distinkt erkennbar sind (Abb. 2). Letzteres gilt allerdings nur für die Kerne der Hodensepten; in den meisten anderen Kernen herrschen auf den ersten Blick hin sehr eigentümliche Verhältnisse. Im Gegensatz zu *Gerris lateralis*, bei welcher die X-Chromosomen somatisch heterochromatisch sind, und zu *Gerris lacustris* und *Velia currens*, die überhaupt keine somatische Heterochromasie zeigen — die Arten folgen dem XO-Typus — enthalten bei *Lygaeus* die polyploiden Kerne des Männchens einen heterochromatischen Körper, der proportional mit der Kerngröße (Polyploidiestufe) an Größe zunimmt;

¹ Dies ist ein deutlicher Unterschied gegenüber der durch Colchicinwirkung ausgelösten Mitose, mit der sonst größte Ähnlichkeit im Ablauf wie im Ergebnis besteht: in beiden Fällen wird die Spindelbildung und die Wirksamkeit der Spindelansätze unterdrückt, während die Chromosomenspaltung ungehindert abläuft; die Folge sind polyploide Kerne (vgl. über die Colchicinmitose z. B. LEVAN). — Die polyploiden Kerne sind in beiden Fällen wieder mitotisch teilungsfähig; so lassen sich bei *Lygaeus* im Fettkörper oktaploide normale Mitosen beobachten.

er ist in den Kernen der MALPIGHISCHEN Gefäße, der Speicheldrüse, ihres Ausführungsganges u. a. schon bei Betrachtung mit schwacher



Abb. 3a—j. *Lygaeus saxatilis*, ♂. a—h Stadien der Entwicklung der Hodenseptenkerne. a frühe Endoprophase (Zerstäubungsstadium) eines tetraploiden Kernes. b tetraploider Kern in später Endoprophase, c in Endoanaphase. d Endotelophase eines diploiden Kernes. e späte Endoanaphase eines oktoploiden Kernes (die vier Y-Chromosomen sind sichtbar). f ebenso, Endotelophase. g junger und h fertiggestellter 16-ploider Kern. i Chromosomen aus einer späten spermatogonialen Prophase, unten das Y-Chromosom; Kontraktion noch nicht maximal. j tetraploide Prophase im Fettkörper. In a—h ist nur ein Teil der Chromosomen zur Darstellung gebracht. Ausstriche, Flemming-Benda.

Vergrößerung auffallend sichtbar (Abb 4, 5, 6g). Im Weibchen fehlt dieser heterochromatische Körper und jede Heterochromasie überhaupt; hieraus läßt sich bereits vermuten, daß allein das Y-Chromosom somatisch

heterochromatisch ist und in den polyploiden Kernen Sammelchromozentren bildet¹.

Die Richtigkeit der Deutung ergibt sich aus den folgenden Tatsachen:

Zunächst lassen sich, wie erwähnt, in den Hodenseptenkernen peripher gelagerte heterochromatische Körper beobachten, die nach der Polyploidiestufe des betreffenden Kernels zu 2, 4 oder 8 vorhanden sind und in

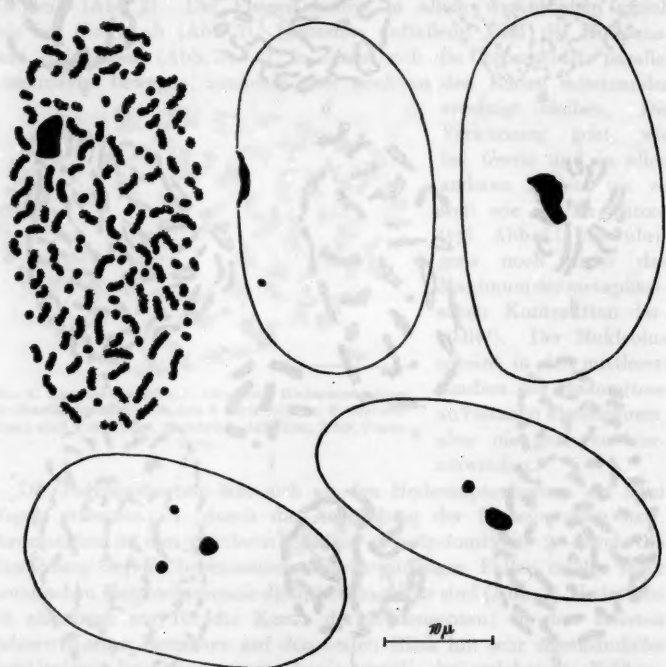


Abb. 4. *Lygaeus saxatilis*, ♂. Größte Kerne aus den MALPIGHISCHEN Gefäßen, wahrscheinlich 32-ploid; links oben: das Y-Sammelchromozentrum und Autosomen im Oberflächenbild dargestellt; in den übrigen Kernen sind nur die Y-Chromozentren dargestellt. Zupfpräp., Flemming-Benda.

Größe und Gestalt den Y-Chromosomen gleichen, wie sie in der Meiose, den Spermatiden (Abb. 1i) und der Mitose auftreten. Ferner gibt es polyploide Kerne — sie sind in Zupfpräparaten in Verbindung mit dem Gehirn sichtbar —, die einen auffallend lockeren Bau besitzen; in ihnen ist der große heterochromatische Körper in der Regel aus mehreren

¹ Dies wurde schon in der vorl. Mitteilung (GEITLER 1939a) angedeutet; ein ähnliches, aber aus Mangel an Material nicht sicher aufklärbares Verhalten wurde früher an einer Gerride beobachtet (GEITLER 1938a).

kleineren Teilkörpern zusammengesetzt, deren jeder in Größe und Aussehen einem Y-Chromosom entspricht (Abb. 7). In niedriger polyploiden Kernen sind diese Teilkörper manchmal völlig getrennt bzw. liegen zu zweien (Abb. 7a) oder auch zu vierten (Abb. 7d) beisammen. Die Gesamtzahl der Teilkörper beträgt 2, 4, 8 oder 16, in den größten Kernen lassen sich die Zahlen 32 und 64 (Abb. 7e, f) vermuten. Bei völliger Verklumpung würde ein homogenes, bzw. im KES vakuolisiertes Chromozentrum vom Aussehen der den Kernen der MALPIGHISCHEN Gefäße u. a. eigentümlichen Gebilde entstehen. — Die Ganglienkerne sind, wie bei *Gerris*, diploid und verdanken ihre verschiedene Größe der wechselnden Kernsaftmenge; dementsprechend sind die Chromosomen verschieden stark aufgelockert und in chromomerenartige Körnchen aufgelöst. Besonders in den großen und größten Kernen ist leicht ein peripherer heterochromatischer Körper vom Aussehen des Y-Chromosoms zu erkennen (Abb. 3d, e). Seine Größe bleibt in verschiedenen großen (diploiden) Kerne die gleiche, da er seine dichte Beschaffenheit beibehält. Der gleiche Körper ist auch in dichter gebauten Kernen, so im Fettgewebe, zu beobachten (Abb. 6a); in tetraploiden (Abb. 6b) und oktoploiden Kernen ist er entsprechend größer, da er aus zwei bzw. vier Teilkörpern zusammengesetzt ist.

Aus diesen Beispielen, die sich vermehren ließen, wie aus dem unterschiedlichen Verhalten der Kerne im männlichen und weiblichen Soma ergibt sich, daß das somatische Heterochromatin das Y-Chromosom ist, das allein somatisch heterochromatisch ist und in den meisten polyploiden Kernen Sammelchromozentren bildet. Das X-Chromosom verhält sich in den somatischen Kernen von den Autosomen nicht nachweisbar verschieden; dies wird besonders in den Kernen mit aufgelockerten Autosomen deutlich.

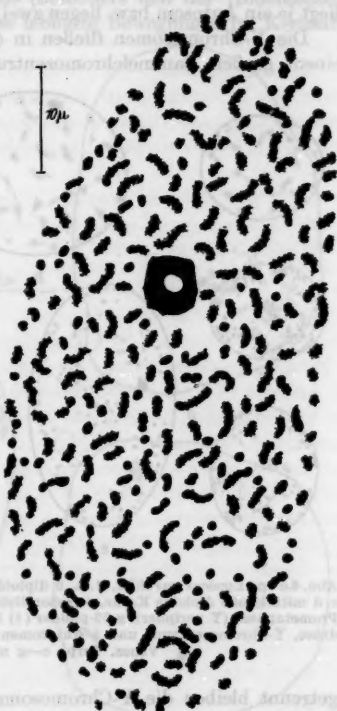


Abb. 5. *Lygaeus saxatilis*, ♂. Eingroßer Kern aus der Speicheldrüse (128- oder 256-ploid): Oberflächenbild. Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

Eine Beziehung der Y-Chromosomen zum Nukleolus besteht in den somatischen Kernen ebensowenig wie in der Meiose. In den (diploiden) Ganglienkernen sind zwei kleine Nukleolen oder es ist durch Zusammenfließen dieser ein größerer Nukleolus vorhanden (Abb. 6c—e); an ihnen liegt je ein Autosom bzw. liegen zwei Autosomen, die SAT-Chromosomen.

Die Y-Chromosomen fließen in den meisten polyploiden Kernen zu einem großen Sammelchromozentrum zusammen. Regelmäßig völlig

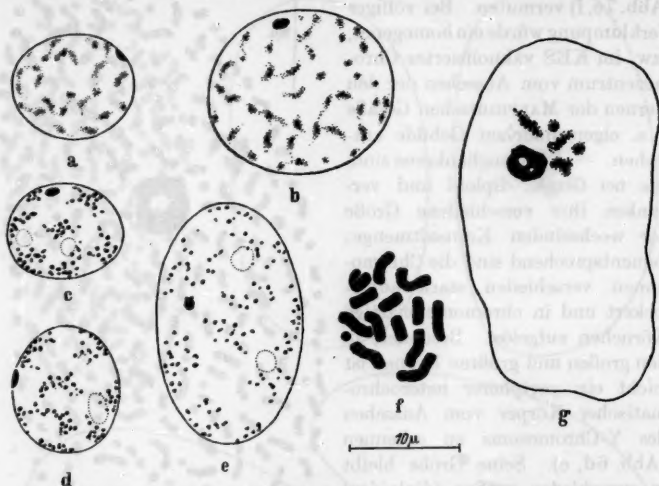


Abb. 6a—g. *Lygaeus saxatilis*, ♂. a, b diploider und tetraploider Kern aus dem Fettkörper. c, d mittelgroße diploide Kerne, e großer diploider Kern aus dem Gehirn. f spermatogoniale Prometaphase (Y peripher). g 32-ploider (?) Kern aus dem Ausführungsgang der Speicheldrüse, Y-Chromozentrum und 5 Autosomen dargestellt. a, b Ausstriche, Alk.-Eis., KES, Venez. Terp., c—g nach Alk.-Eis. in KES.

getrennt bleiben die Y-Chromosomen, wie erwähnt, nur in den Hodenseptenkernen, teilweise getrennt sind sie in den auf Abb. 7 dargestellten Kernen. Diese Unterschiede stehen wenigstens zum Teil mit dem mehr lockeren oder dichten Bau der Kerne in Zusammenhang; nicht nur die verschiedene dichte Lagerung der Chromosomen, sondern auch der Grad der Auflockerung der Chromosomenkörper selbst hängt offensichtlich von der gebildeten Kernsaftmenge ab. Während die dichtgebauten Chromosomen mitoseähnliche Ausbildung besitzen, sind die locker gebauten vergrößert und schwächer färbbar, besitzen unregelmäßige Umrisse und lassen meist einen Aufbau aus kleinen Körnchen erkennen¹. Diese Körnchen (Abb. 6c—d, Abb. 7b, c) sind wohl Chromomeren, da sie die gleiche

¹ In den alten Hodenseptenkernen erscheinen die Chromosomen mehr homogenwolkig ausgebildet (Abb. 2).

Größenordnung wie die Pachytänchromomeren besitzen; ein Beweis ist allerdings zunächst wohl kaum zu erbringen, zumal sich auch die Fixierungswirkung nur ungefähr abschätzen läßt (vgl. auch GEITLER 1939b).

In den locker gebauten Kernen (besonders den der Hodensepten) erfolgen zur Zeit der Endotelophase lebhaftere Bewegungen im Kernsaft;

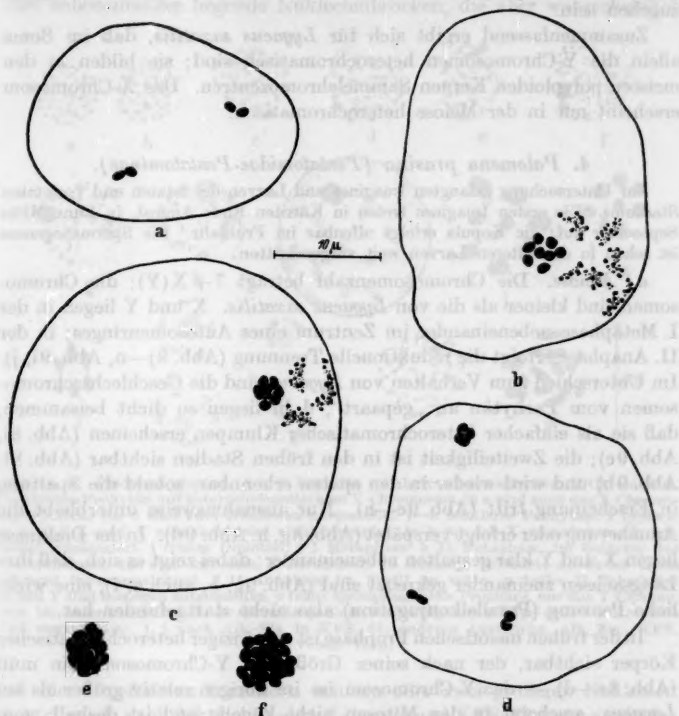


Abb. 7a-f. *Lygaeus saxatilis*, ♂. Polyploide, dem Gehirn anliegende Kerne mit lockerem Bau der Chromozentren und Autosomen (letztere mit chromomerenartiger Struktur, in b. c zum Teil dargestellt). a 8-ploid, je zwei Tochter-Y beisammen; b 16-ploid, die 8 Y in einer Gruppe; c ebenso, die Y leicht verklumpt (Kern sehr flach); d ebenso, die Y zerstreut, aber die Tochterchromosomen beisammen; e, f Gruppe von 16 bzw. 32 Y-Chromosomen aus einem 32- bzw. 64-ploiden Kern. Nach Alk.-Eis. in KES.

dies läßt sich z. B. an der Lage der Y-Chromosomen, die in der vorausgehenden Teilung auseinander entstanden sind, ablesen (Abb. 2, Abb. 3e). Eine leichte Annäherung von je zweien, d. h. ein gewisses Beisammenbleiben der Schwesterchromosomen, ist allerdings erkennbar.

In dichtgebauten Kernen sind die Y-Chromosomen träger als die euchromatischen Chromosomen, d. h. entfernen sich in typischen Fällen

überhaupt nicht in der Endoanaphase oder -telophase voneinander und unterliegen daher der Sammelchromozentrenbildung. Ein geringerer, aber doch deutlich feststellbarer Grad von Trägheit ist für die somatisch heterochromatischen X-Chromosomen von *Gerris lateralis* bezeichnend. Auf diese Verhältnisse wird in allgemeinerem Zusammenhang noch einzugehen sein.

Zusammenfassend ergibt sich für *Lygaeus saxatilis*, daß im Soma allein die Y-Chromosomen heterochromatisch sind; sie bilden in den meisten polyploiden Kernen Sammelchromozentren. Das X-Chromosom erscheint nur in der Meiose heterochromatisch.

4. *Palomena prasina* (Pentatomidae-Pentatominae).

Zur Untersuchung gelangten Imagines und Larven des letzten und vorletzten Stadiums. Die ersten Imagines treten in Kärnten Ende August, in Lunz Mitte September auf; die Kopula erfolgt offenbar im Frühjahr. Die Spermatogenese ist schon in den älteren Larven weit vorgeschritten.

a) *Meiose*. Die Chromosomenzahl beträgt $7 + X(Y)$; die Chromosomen sind kleiner als die von *Lygaeus saxatilis*. X und Y liegen in der I. Metaphase nebeneinander im Zentrum eines Autosomenringes; in der II. Anaphase erfolgt die reduktionelle Trennung (Abb. 8j—n, Abb. 9i, j). Im Unterschied zum Verhalten von *Lygaeus* sind die Geschlechtschromosomen vom Pachytän an „gepaart“, d. h. liegen so dicht beisammen, daß sie als einfacher heterochromatischer Klumpen erscheinen (Abb. 8i, Abb. 9c); die Zweiteiligkeit ist in den frühen Stadien sichtbar (Abb. 8f, Abb. 9b) und wird wieder in den späten erkennbar, sobald die Spaltung in Erscheinung tritt (Abb. 9e—h). Nur ausnahmsweise unterbleibt die Annäherung oder erfolgt verspätet (Abb. 8g, h, Abb. 9d). In der Diakinese liegen X und Y klar gespalten nebeneinander; dabei zeigt es sich, daß ihre Längsachsen zueinander gekreuzt sind (Abb. 9g, h, auch e, f), eine wirkliche Paarung (Parallelkonjugation) also nicht stattgefunden hat.

In der frühen meiotischen Prophase ist ein einziger heterochromatischer Körper sichtbar, der nach seiner Größe das Y-Chromosom sein muß (Abb. 8a—d) — das Y-Chromosom ist im übrigen relativ größer als bei *Lygaeus*, erscheint in den Mitosen nicht kugelig und ist deshalb vom kleinsten Autosom nicht sicher unterscheidbar (Abb. 8p). Ein Körper gleicher Größe ist auch in günstigen Fällen in prophasischen Spermatogoniekernen erkennbar (Abb. 8o). Noch im frühen Pachytän ist vielfach nur das Y-Chromosom heterochromatisch (Abb. 8c, d); in manchen Kernen läßt sich jedoch in seiner Nähe ein zweiter, deutlich größerer und langgestreckter, schwach heterochromatischer Körper erkennen (Abb. 8e): es ist dies das X-Chromosom. In seltenen Fällen erfolgt seine Kondensation noch später (Abb. 8h).

Es besteht also bei *Palomena* in der frühen meiotischen Prophase ein Unterschied im Verhalten des X- und Y-Chromosoms: ihre Hetero-

chromasie ist verschieden. In diesem Verhalten zeigt sich eine Andeutung der verschiedenen Beschaffenheit, die sich, wie bei *Lygaeus*, auffallend im Soma ausdrückt.

Die Morphologie der Nukleolen ist schwer verständlich. Im Pachytän erscheinen nach BENDA-Fixierung und GRAM-Färbung meist zwei bis vier nebeneinander liegende Nukleolenbrocken, die aber wahrscheinlich

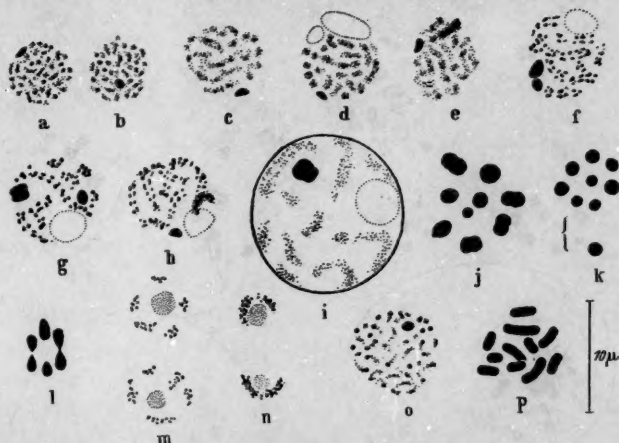


Abb. 8a—p. *Palomena prasina*, ♂. a, b Leptotän mit heterochromatischem Y-Chromosom. c—e frühes Pachytän mit heterochromatischem Y-Chromosom, in e wird auch das X-Chromosom sichtbar (in d sind zwei Nukleolen dargestellt). f—h mittleres Pachytän: f typisch, in g sind X und Y ausnahmsweise nicht vereinigt, in h ist das X ausnahmsweise verspätet kondensiert. i frühes Diplotän. j I. Metaphase. k II. Metaphase, im Zentrum das Y-Chromosom, das sich mit dem X-Chromosom in Deckung befindet; dieses ist unten getrennt herausgezeichnet. l II. Anaphase im Profil. m späte, n frühe II. Telophase: X und Y sind homogen aufgequollen. o frühe spermatogoniale Prophase, nur das Y-Chromosom ist heterochromatisch. p spermatogoniale Prometaphase (einige große Autosomen sind weggelassen). i, j nach Alk.-Eis., in KES, die anderen Ausstriche, Alk.-Eis., KES, Venez. Terr.

nur die ausgefärbten Innenteile von ein oder zwei größeren Nukleolen darstellen, da nach Alkohol-Eisessigfixierung und KES-Färbung zwei oder meist nur ein Nukleolus sichtbar ist (Abb. 8d, f—h, Abb. 9b). Die Nukleolen zeigen keine regelmäßigen Lagebeziehungen zu den Geschlechtschromosomen, wenn sie auch häufig in deren Nähe liegen (Abb. 8h). Doch wird es aus dem Verhalten in gewissen somatischen Kernen wahrscheinlich, daß die Geschlechtschromosomen dennoch SAT-Chromosomen sind; in der Meiose tritt offenbar leicht Ablösung vom Nukleolus ein.

b) *Somatische Kerne*. Die allgemeinen Bauverhältnisse sind die gleichen wie bei *Lygaeus* und den Wanzen überhaupt. Die sehr verschiedenen Kerngrößen beruhen auf Polyploidie infolge von Endomitosen (Abb. 10k); daneben spielt Kernsaftvermehrung eine Rolle (Abb. 10a bis d).

Wie bei *Lygaeus* findet sich in den somatischen Kernen des Männchens, nicht aber des Weibchens, ein Chromozentrum. In den diploiden Kernen

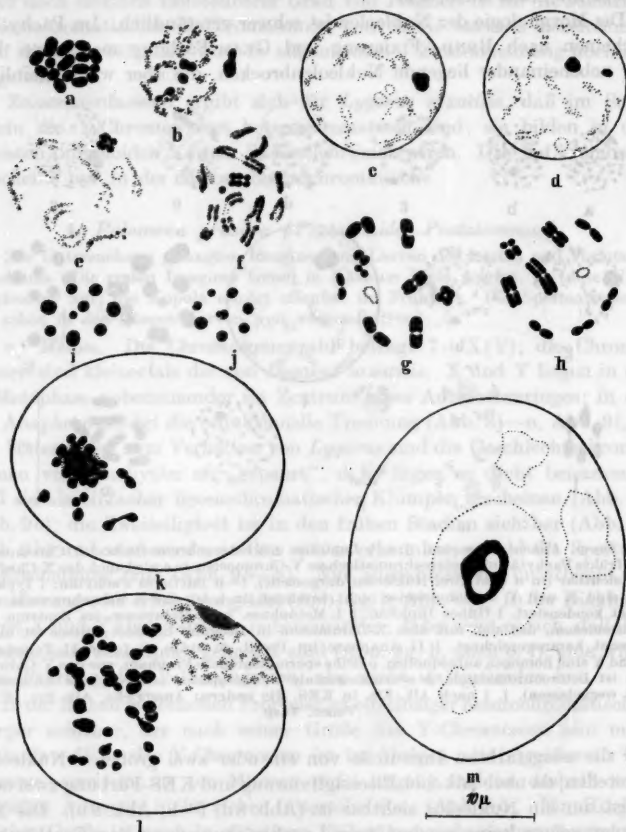


Abb. 9a—m. *Palomena prasina*, ♂. a spermatogoniale Metaphase. b mittleres Pachytan, rechts XY, links drei Nukleolen. c, d diffuses Stadium: c typisch, in d sind X und Y ausnahmsweise getrennt. e spätes Diplotan, XY „abschmelzend“. f frühe Diakinese, in der Mitte XY, links unterhalb ein kleiner Nukleolusrest. g, h Diakinese, links oben XY. i I. Metaphase, j II. Metaphase (X und Y zentral). k—m Kerne aus den MALPIGHISCHEN Gefäßen (32-ploid?). In k ist das Y-Chromozentrum (punktiert) von Nukleolenkörnern verdeckt, in l ist es getrennt sichtbar (dazu einige Autosomen eingezeichnet), in m sieht man es einem Nukleolus anliegen. m nach Alk.-Eis. in KES, die anderen Ausstriche, Flemming-Benda.

entspricht das Chromozentrum in Größe und Aussehen dem Y-Chromosom, wenn auch gewisse Schwankungen in Zusammenhang mit der

Kerngröße vorkommen (Abb. 10a—i)¹. In polyploiden Kernen sind die Y-Chromosomen — um diese handelt es sich zweifellos — zu einem entsprechend großen Sammelchromozentrum vereinigt oder bilden manchmal auch zwei oder drei kleinere Sammelchromozentren. Solche Sammelchromozentren treten besonders auffallend in den hoch polyploiden

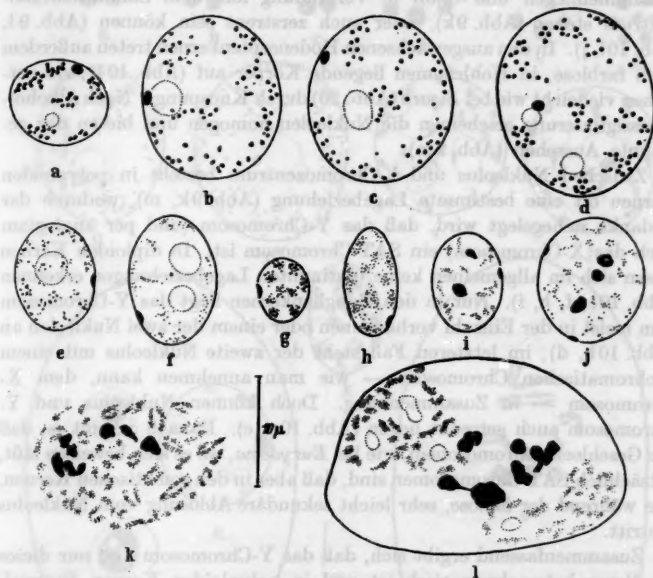


Abb. 10a—l. *Palomena prasina*, ♂. a—d diploide Kerne aus dem Gehirn, a mittelgroß, b—d von maximaler Größe. e, f diploide Kerne der Epidermis einer Flügelanlage, h, g diploide Kerne aus dem Epithel eines Darmanhanges, verschieden dicht gebaut. i, j Bindegewebe, diploider bzw. tetraploider Kern mit zwei bzw. drei Nukleolenkörnern. k 8-ploider Hodenseptenkern in Endotelyphase. l 32-ploider Hodenseptenkern mit gefärbten und ungefärbten Nukleolenbrocken, dazu einige Autosomen dargestellt. a—d nach Alk.-Eis. in KES. e—h Alk.-Eis., KES, Venez. Terp., i—l Flemming-Benda.

Kernen der Speicheldrüse, ihres Ausführungsganges, der MALPIGHISCHEN Gefäße (Abb. 9k—m) u. a. auf. Die Chromozentren oder Sammelchromozentren liegen, von Ausnahmen abgesehen (Abb. 10d), streng peripher.

In den Kernen der Hodensepten und Hodenwand sind die Y-Chromosomen nicht sichtbar. Dies kann damit zusammenhängen, daß sie wie bei *Lygaeus* isoliert werden und infolge ihrer geringen Größe und vielleicht infolge einer gewissen Auflockerung nicht sichtbar sind; vielleicht

¹ Sie zeigen, daß auch das Y-Chromosom einer gewissen Aufblähung fähig ist.

liegen sie aber — wie bei *Eurydema* — an den Nukleolen, sind aber noch stärker als dort deformiert und zerflossen, daher nicht erkennbar¹.

Die Nukleolenverhältnisse lassen sich, wie in der Meiose, nicht befriedigend klären. Nach BENDA-Fixierung und GRAM-Färbung erscheinen unregelmäßige, stark färbbare Körper in größerer Zahl, die beisammenliegen und dann in Verbindung mit dem Sammelchromozentrum stehen (Abb. 9k), oder auch zerstreut sein können (Abb. 9l, Abb. 10i, j). In den ausgewachsenen Hodenseptenkernen treten außerdem noch farblose, in Hohlräumen liegende Körper auf (Abb. 10l); sie entstehen vielleicht wie bei *Sigara* (Abb. 20) durch Knospung². Nach Alkohol-Eisessigfixierung erscheinen die Nukleolen homogen und bieten das gewohnte Aussehen (Abb. 9m).

Zwischen Nukleolus und Y-Chromozentrum besteht in polyploiden Kernen oft eine bestimmte Lagebeziehung (Abb. 9k, m), wodurch der Gedanke nahegelegt wird, daß das Y-Chromosom (und per analogiam auch das X-Chromosom) ein SAT-Chromosom ist. In diploiden Kernen lassen sich im allgemeinen keine bestimmten Lagebeziehungen erkennen (Abb. 10e, f, h, i). Nur in den Ganglienkernen liegt das Y-Chromosom dem meist in der Einzahl vorhandenen oder einem der zwei Nukleolen an (Abb. 10b, d); im letzteren Fall steht der zweite Nukleolus mit einem euchromatischen Chromosom — wie man annehmen kann, dem X-Chromosom — in Zusammenhang. Doch können Nukleolus und Y-Chromosom auch getrennt liegen (Abb. 10a, c). Danach scheint es, daß die Geschlechtschromosomen, wie bei *Eurydema*, wo es sich beweisen läßt, tatsächlich SAT-Chromosomen sind, daß aber in den somatischen Kernen, wie während der Meiose, sehr leicht sekundäre Ablösung vom Nukleolus eintritt.

Zusammenfassend ergibt sich, daß das Y-Chromosom und nur dieses im Soma heterochromatisch ist und in polyploiden Kernen Sammelchromozentren bildet.

5. *Eurydema dominulus* (Pentatomidae-Pentatominae).

Die Art kommt in großer Individuenzahl auf den Wiesen des Rehbergsattels bei Lunz vor. Im September treten Larven des letzten Stadiums und Imagines auf. Die Kopula erfolgt auch bei dieser Art wohl erst im Frühjahr.

a) *Miose*. Die Chromosomenzahl beträgt $6 + X(Y)$; das Y-Chromosom ist das kleinste des Satzes (Abb. 11a–f). In der Prophase sind die Geschlechtschromosomen dicht aneinandergelagert und verklumpt (Abb. 11n). Im Diplotän wird der Doppelbau sichtbar, wobei sich wie bei

¹ Die Hodenseptenkerne von *Palomena* besitzen besonders stark aufgelockerte, wolkige Chromosomen.

² Die GRAM-Färbung wirkt im übrigen verschieden auf in der Mitte und am Rand der Ausstriche liegende Zellen ein; an letzteren, die mehr oder weniger ausgetrocknet sind, zeigt sich unter Umständen eine Umkehrung des Färbeverhaltens der Nukleolen.

Palomena zeigt, daß die Achsen senkrecht aufeinander stehen (Abb. 11o). In der Diakinese sind die Partner völlig getrennt und liegen oft weit voneinander entfernt. Die Chromosomenanordnung während der

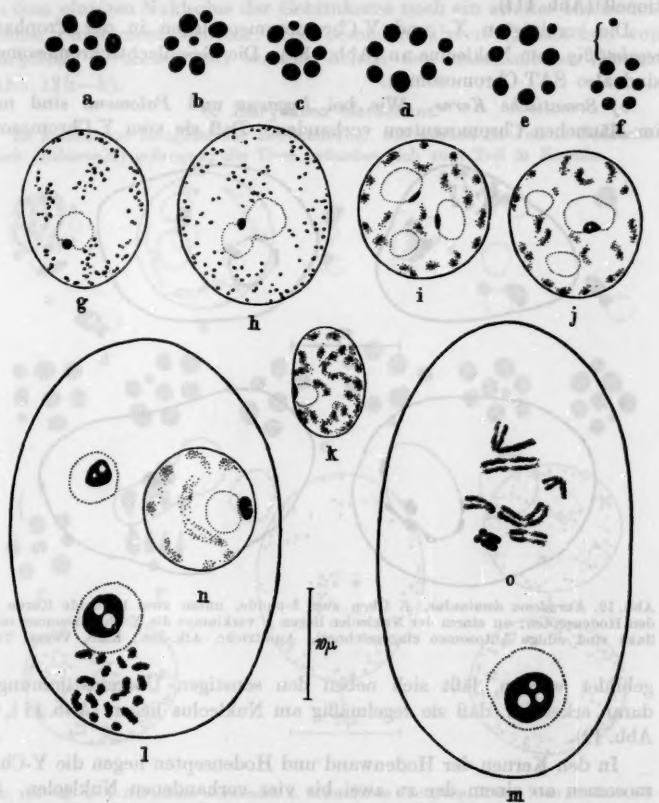


Abb. 11a-o. *Eurydema dominulus*, ♂. a-e I. Metaphase mit verschiedener Anordnung der Geschlechtschromosomen und Autosomen. f II. Metaphase, oben das mit dem zentral liegenden X in Deckung befindliche Y getrennt dargestellt. g, h große diploide Kerne aus dem Gehirn: am Nukleolus das Y-Chromosom. i, j tetraploide Kerne aus dem Mitteldarm. k diploider Kern aus der Epidermis. l, m 64-ploide (?) Kerne aus dem MALPIGHISCHEN Gefäßen (in l unten sind einige Autosomen eingezeichnet). n frühes Diplotän. o frühe Diakinese. Austriche, Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

I. Metaphase ist auffallend mannigfaltig (Abb. 11a-e): so können X oder Y oder beide im Autosomenring liegen, im Zentrum befindet sich dann ein beliebiges Autosomenpaar; in manchen Cysten wird einheitlich nur

ein Ring ausgebildet, wobei das Y-Chromosom manchmal auch außerhalb desselben zu liegen kommt (Abb. 11d, e). In der II. Metaphase liegen X und Y gepaart im Zentrum, die II. Anaphase ist für sie reduktionell (Abb. 11f).

Die vereinigten X- und Y-Chromosomen liegen in der Prophase regelmäßig dem Nukleolus an (Abb. 11n). Die Geschlechtschromosomen sind also SAT-Chromosomen.

b) *Somatische Kerne*. Wie bei *Lygaeus* und *Palomena* sind nur im Männchen Chromozentren vorhanden. Daß sie vom Y-Chromosom

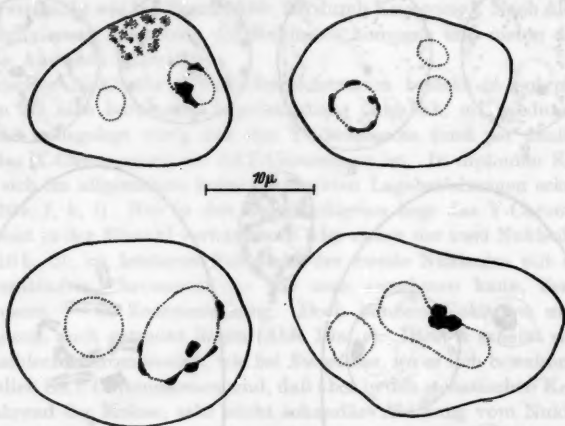


Abb. 12. *Eurydema dominulus*, ♂. Oben zwei 8-ploide, unten zwei 16-ploide Kerne aus den Hodensepten; an einem der Nukleolen liegen \pm verklumpt die Y-Chromosomen (oben links sind einige Autosomen eingezeichnet). Ausstriche, Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

gebildet werden, läßt sich neben den sonstigen Übereinstimmungen daran erkennen, daß sie regelmäßig am Nukleolus liegen (Abb. 11l, m, Abb. 12).

In den Kernen der Hodenwand und Hodensepten liegen die Y-Chromosomen an einem der zu zwei bis vier vorhandenen Nukleolen. Sie sind stark angepreßt, dementsprechend flach und oft mehr oder weniger zusammengeklebt (Abb. 12). Das Verhalten stimmt insofern zu dem von *Lygaeus* und vermutlich von *Palomena*, als auch dort in diesen Kernen die Y-Chromosomen nicht zu Sammelchromozentren vereinigt sind. In anderen, höher polyploiden Kernen erscheinen sie als zusammengefloßene heterochromatische Massen (Abb. 11l, m). Der Zusammenhang mit dem Nukleolus ist in allen Fällen klar; dies gilt auch für niedriger polyploide Kerne (Abb. 11i, j) und für die diploiden Ganglienkerne (Abb. 11g, h) sowie andere diploide Kerne (Abb. 11k).

Daß außer dem mit dem Y-Chromosom zusammenhängenden Nukleolus noch andere Nukleolen vorhanden sind, ist daraus verständlich, daß auch das X-Chromosom ein SAT-Chromosom ist. Tatsächlich ist an dem einzigen Nukleolus der Gehirnerne noch ein zweites euchromatisches Chromosom sichtbar. Die besonders klaren Verhältnisse von *Eurydema oleraceum* und *ventrale* liefern den unmittelbaren Beweis (Abb. 13h—k).

6. *Eurydema oleraceum*.

Es kamen nur Imagines zur Beobachtung. Sie wurden im Juli in Südsteiermark (Eibiswald) gefangen; die Tiere befanden sich zum Teil in Kopula.

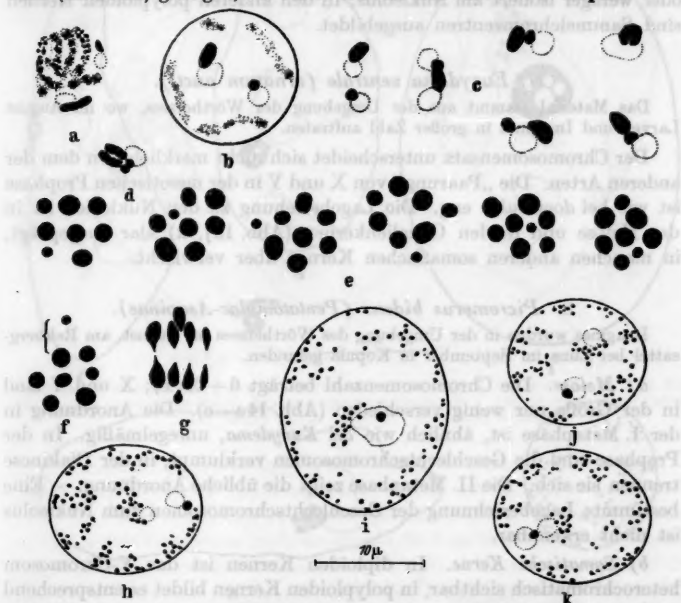


Abb. 13a—k. a—l *Eurydema oleraceum*. j. a mittleres Pachytän, X und Y an je einem Nukleolus. b frühes Diplotän. c X und Y am Nukleolus ebensolcher Kerne (in den beiden ersten Figuren sind die beiden primären Nukleolen getrennt, in den anderen verschmolzen). d XY am Nukleolus in der späten Diakinese. e Variation der I. Metaphasenplatte (beachte die verschiedene Lage des Y-Chromosoms). f II. Metaphase, zentral das X-Chromosom, das von ihm gedeckte Y-Chromosom ist oben getrennt herausgezeichnet. g II. Anaphase in Seitenansicht. h, i großer und größter diploider Kern aus dem Gehirn: in h ist am einen Nukleolus das euchromatische X-Chromosom, am anderen das heterochromatische Y-Chromosom sichtbar, in i liegen beide am Sammelnukleolus. j, k zwei große diploide Kerne aus dem Gehirn von *Eurydema ventrale*, an den Nukleolen liegen X und Y. Nach Alk.-Eis. in KES.

Der Chromosomensatz ist der gleiche wie bei *Eurydema dominulus* (Abb. 13; die scheinbar bedeutendere Größe ist durch die Präparation

bedingt). Im Unterschied zu *Eurydema dominulus* wird die „Paarung“ von X und Y nicht immer durchgeführt. In diesen Fällen läßt sich beobachten, daß sowohl dem Y- wie dem X-Chromosom je ein Nukleolus anhaftet (Abb. 13a—c); durch Zusammenfließen kann ein einziger Nukleolus entstehen.

In den großen und größten (diploiden) Ganglienkernen ist meist ein einziger Nukleolus entwickelt, dem dann X und Y anhaften (Abb. 13i); doch finden sich auch Kerne mit zwei, entsprechend kleineren Nukleolen (Abb. 13h). In den Hodenseptenkernen liegen die Y-Chromosomen mehr oder weniger isoliert am Nukleolus; in den anderen polyploiden Kernen sind Sammelchromozentren ausgebildet.

7. *Eurydema ventrale (ornatum auct.)*.

Das Material stammt aus der Umgebung des Wörthersees, wo im August Larven und Imagines in großer Zahl auftraten.

Der Chromosomensatz unterscheidet sich nicht merklich von dem der anderen Arten. Die „Paarung“ von X und Y in der meiotischen Prophase ist wie bei *dominulus* eng. Die Lagebeziehung zu den Nukleolen ist in der Meiose und in den Ganglienkernen (Abb. 13j, k) klar ausgeprägt, in manchen anderen somatischen Kernen aber verwischt.

8. *Picromerus bidens (Pentatomidae-Asopinae)*.

Imagines wurden in der Umgebung des Wörthersees im August, am Rehbergsattel bei Lunz im September in Kopula gefunden.

a) *Meiose*. Die Chromosomenzahl beträgt $6 + X(Y)$; X und Y sind in der Größe nur wenig verschieden (Abb. 14a—e). Die Anordnung in der I. Metaphase ist, ähnlich wie bei *Eurydema*, unregelmäßig. In der Prophase sind die Geschlechtschromosomen verklumpt, in der Diakinese trennen sie sich. Die II. Metaphase zeigt die übliche Anordnung. — Eine bestimmte Lagebeziehung der Geschlechtschromosomen zum Nukleolus ist nicht erkennbar.

b) *Somatische Kerne*. In diploiden Kernen ist das Y-Chromosom heterochromatisch sichtbar, in polyploiden Kernen bildet es entsprechend große, streng peripher gelagerte Sammelchromozentren (Abb. 14i, Abb. 15); im weiblichen Soma fehlt jede Heterochromasie. Im Unterschied zu den bisher besprochenen Arten sind die Y-Chromosomen auch in den Hodenseptenkernen meist verklumpt (Abb. 14f, g); nur selten sind die einzelnen Chromosomen mehr oder weniger deutlich erkennbar (Abb. 14g unten, h).

Die Y-Chromozentren liegen den Nukleolen nicht an (Abb. 14, Abb. 15). Doch findet man ausnahmsweise Ganglikerne mit zwei Nukleolen, an deren einem das Y-Chromosom haftet (Abb. 14j); gewöhnlich ist nur ein einziger, entsprechend größerer Nukleolus vorhanden,

der vom Y-Chromosom getrennt liegt. Ob die Geschlechtschromosomen SAT-Chromosomen sind oder nicht, läßt sich demnach nicht entscheiden.

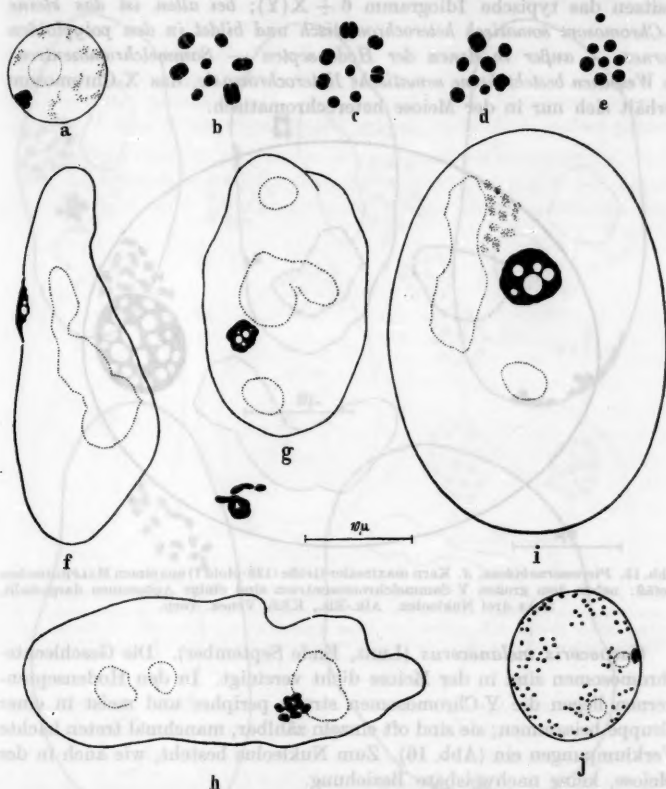


Abb. 14a—j. *Pteromerus bidens*, ♂. a diffuses Stadium, XY dicht vereinigt. b—d I. Metaphase. e II. Metaphase (oben das Y-Chromosom getrennt dargestellt). f—h 16-ploide Kerne der Hodensepten: in f das Y-Sammelchromozentrum im Profil, in g im Flächenbild (darunter eine locker gebaute Y-Gruppe aus einem anderen Kern), in h sind die 8 Y einzeln erkennbar. i 64-ploider (?) Kern aus einem MALPIGHISCHEN Gefäß (oben einige Autosomen dargestellt). j mittelgroßer Kern aus dem Gehirn, der ausnahmsweise zwei Nukleolen besitzt.

Ausstriche, Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

9. Andere Pentatomiden.

Von den im folgenden behandelten sechs Arten (vier Pentatominen, zwei Scutellerinen) standen nur in beschränkter Anzahl Imagines zur Verfügung, die zudem größtenteils überreif waren, so daß die Unter-

suchung auf das nötigste beschränkt werden mußte. Die Arten verhalten sich in allem Wesentlichen gleich wie die früher besprochenen: alle besitzen das typische Idiogramm $6 + X(Y)$; bei allen ist das kleine Y-Chromosom somatisch heterochromatisch und bildet in den polyploiden Kernen — außer in denen der Hodensepten — Sammelchromozentren; im Weibchen besteht keine somatische Heterochromasie, das X-Chromosom verhält sich nur in der Meiose heterochromatisch.

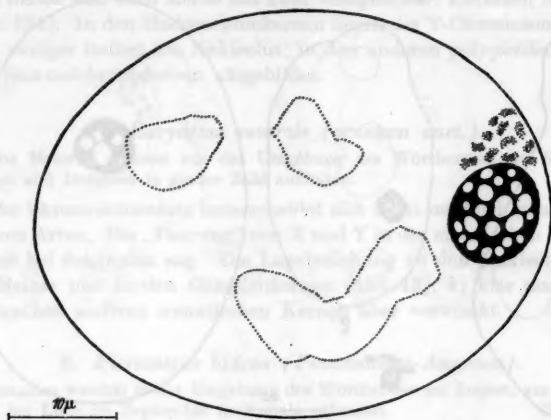


Abb. 15. *Picromerus bidens*, ♂. Kern maximaler Größe (128-ploid ?) aus einem MALPIGHISCHEN Gefäß: neben dem großen Y-Sammelchromozentrum sind einige Autosomen dargestellt, links drei Nukleolen. Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

Carpocoris melanocerus (Lunz, Ende September). Die Geschlechtschromosomen sind in der Meiose dicht vereinigt. In den Hodenseptenkernen liegen die Y-Chromosomen streng peripher und meist in einer Gruppe beisammen; sie sind oft einzeln zählbar, manchmal treten leichte Verklumpungen ein (Abb. 16). Zum Nukleolus besteht, wie auch in der Meiose, keine nachweisbare Beziehung.

Carpocoris fuscispina (Wörthersee, Ende August). Die Art verhält sich genau wie die vorhergehende.

Dolycoris baccarum (Lunz, zweite Hälfte September). Die Geschlechtschromosomen sind in der Meiose dicht vereinigt. In den Hodenseptenkernen sind die Y-Chromosomen nicht sichtbar — sie liegen dann offenbar isoliert — oder bilden zu zweien oder selten zu mehreren kleine Sammelchromozentren.

Pentatoma rufipes (Eibiswald, Ende Juli; Lunz, Mitte September). Die Geschlechtschromosomen sind in der Meiose meist dicht vereinigt, manchmal bleiben sie aber auch getrennt. In den Hodenseptenkernen

liegen die Y-Chromosomen \pm verklumpt in einer Gruppe beisammen oder bilden Sammelchromozentren.

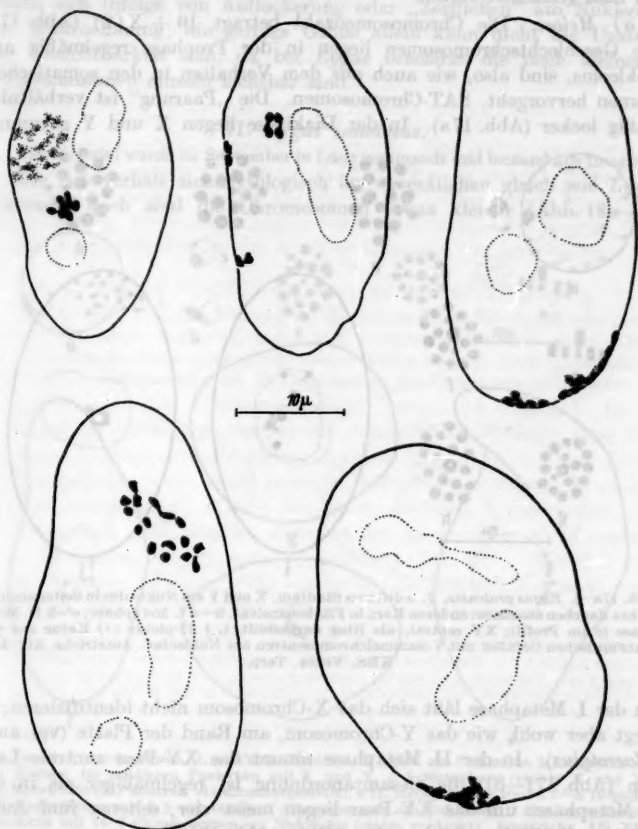


Abb. 16. *Carpocoris melanocerus*, ♂. 16- und 32-ploide Kerne der Hodensepten: die 8 bzw. 16 Y-Chromosomen liegen streng peripher und getrennt von den Nukleolen. Ausstriche, Alk.-Els., KES, Venez. Terp.

Eurygaster maurus (Lunz, zweite Hälfte September). X und Y sind in der Meiose dicht vereinigt. In den Hodenseptenkernen sind die Y-Chromosomen nicht sichtbar.

Graphosoma italicum (Wörthersee, August). Die Art verhält sich wie die vorhergenannte.

10. *Lygus pratensis* (Cepidae).

Zur Untersuchung gelangten Imagines, die im September in der Umgebung von Lunz gesammelt wurden.

a) *Meiose*. Die Chromosomenzahl beträgt $16 + X(Y)$ (Abb. 17). Die Geschlechtschromosomen liegen in der Prophase regelmäßig am Nukleolus, sind also, wie auch aus dem Verhalten in den somatischen Kernen hervorgeht, SAT-Chromosomen. Die „Paarung“ ist verhältnismäßig locker (Abb. 17a). In der Diakinese liegen X und Y getrennt.

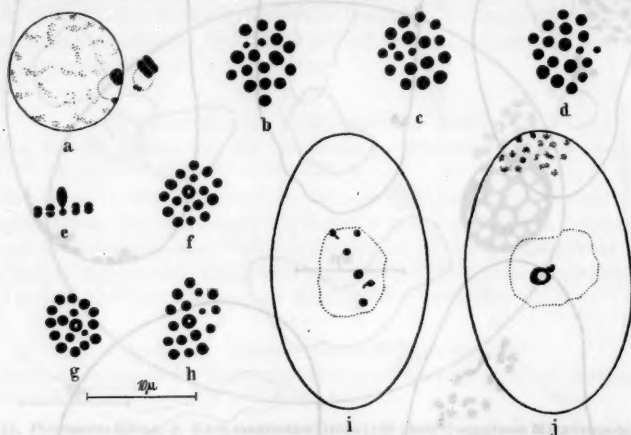


Abb. 17a-j. *Lygus pratensis*, ♂. a diffuses Stadium, X und Y am Nukleolus in Seitenansicht, rechts daneben aus einem anderen Kern in Flächenansicht. b-d I. Metaphase; e-h II. Metaphase (e im Profil), XY zentral, als Ring dargestellt. i, j 32-ploide (?) Kerne aus den MALPIGHISCHEN Gefäßen mit Y-Sammelchromozentren am Nukleolus. Ausstriche, Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

In der I. Metaphase läßt sich das X-Chromosom nicht identifizieren; es liegt aber wohl, wie das Y-Chromosom, am Rand der Platte (vgl. auch *Macrotylus*). In der II. Metaphase nimmt das XY-Paar zentrale Lage ein (Abb. 17f-h); die Gesamtanordnung ist regelmäßiger als in der I. Metaphase: um das XY-Paar liegen meist vier, seltener fünf Autosomen, die übrigen bilden einen Ring (Abb. 17f, g).

b) *Somatische Kerne*. Heterochromatin tritt nur im männlichen Soma auf: es ist wieder das Y-Chromosom, welches somatisch heterochromatisch ist. Die Chromozentren liegen in Übereinstimmung mit dem Verhalten in der Meiose am Nukleolus (Abb. 17i, j). In den höher polyploiden Kernen, so in denen der MALPIGHISCHEN Gefäße, sind meist mehrere Chromozentren in verschiedener Zahl und Größe entwickelt (Abb. 17i), seltener ist ein einziges Sammelchromozentrum ausgebildet (Abb. 17j), in manchen Kernen sind die Y-Chromosomen überhaupt

nicht sichtbar. Dies ist regelmäßig der Fall in den Hodenseptenkernen. In solchen Kernen sind die Y-Chromosomen offenbar isoliert und entziehen sich infolge von Auflockerung oder „Zerfließen“ am Nukleolus der Wahrnehmung; die geringe Größe allein kann nicht die Ursache der Unsichtbarkeit sein, da bei *Lygus innotatus* die noch kleineren Y-Chromosomen einzeln sichtbar sind.

11. *Lygus innotatus*.

Das Material wurde im September in Lunz gesammelt und bestand aus Imagines.

Die Art verhält sich cytologisch im wesentlichen gleich wie *Lygus pratensis*; doch sind die Chromosomen etwas kleiner (Abb. 18a—e).

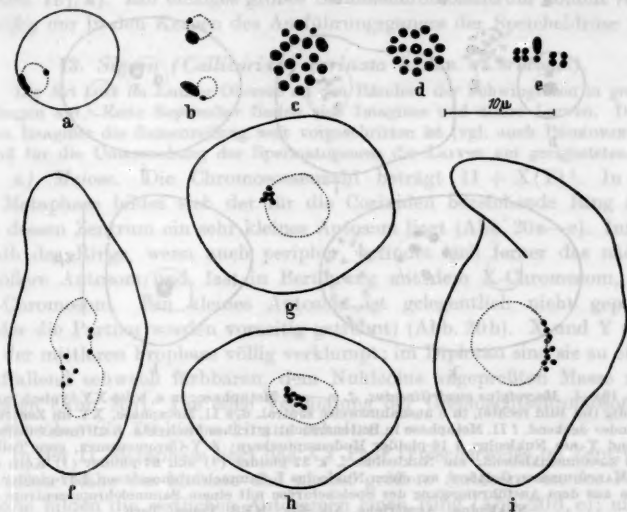


Abb. 18a—i. *Lygus innotatus*, ♂. a diffuses Stadium, X und Y am Nukleolus, b Nukleolen aus zwei Kernen im mittleren Pachytän mit X und Y. c I. Metaphase (rechts X und Y). d II. Metaphase (XY zentral, als Ring dargestellt). e II. Metaphase im Profil. f—h 16-ploide Hodenseptenkerns mit $8 \pm$ getrennten Y-Chromosomen am Nukleolus. i 32-ploider Hodenseptenkern mit 16 Y-Chromosomen am Nukleolus (einige verdeckt). Ausstriche, Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

Die Sammelchromozentrenbildung in den polyploiden Kernen ist ungleichmäßig. In den Hodenseptenkernen lassen sich die dem Nukleolus anliegenden isolierten Y-Chromosomen gut beobachten (Abb. 18f—i).

12. *Macrotylus quadrilineatus* (Carpidae).

Die Art findet sich in Lunz in großen Mengen auf *Salvia glutinosa* auf einem südexponierten Holzschlag (Hofberg). Im September sind größtenteils Imagines, die auch kopulieren, vorhanden.

Macrotylus wurde schon in einer früheren Mitteilung behandelt (GEITLER 1938a, als „*quadripunctatus*“ bezeichnet). Die dort mitgeteilte Chromosomenzahl $16 + X(Y)$ ist richtig, die als Beleg abgebildeten Chromosomenplatten (Abb. 8b¹) sind aber die der II., nicht, wie im Figurentext angegeben, der I. meiotischen Teilung.

Die damalige Annahme, daß die somatischen Chromozentren von beiden Geschlechtschromosomen gebildet würden, ist falsch: Heterochromatin

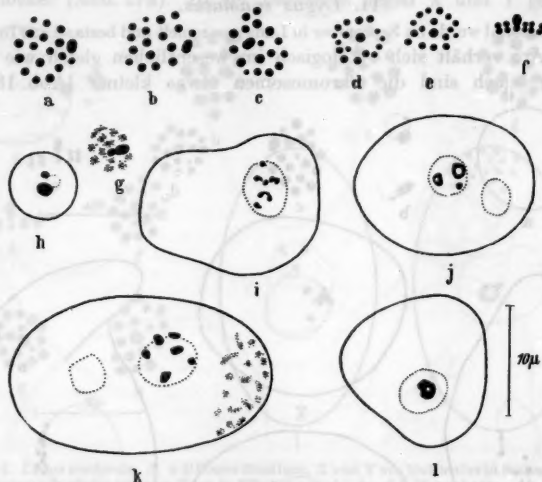


Abb. 19a-l. *Macrotylus quadrilineatus*, ♂. a-c I. Metaphase: in a, b ist XY typisch randständig (im Bild rechts), in c ausnahmsweise zentral. d, e II. Metaphase, XY im Zentrum, einander deckend. f II. Metaphase in Seitenansicht. g frühes Pachytän. h diffuses Stadium. X und Y am Nukleolus. i 16-ploider Hodenseptenkern: 8 Y-Chromosomen, zum Teil je zwei zusammenklebend, am Nukleolus. j, k 32-ploider (?) und 64-ploider (?) Kern aus den MALPIGHISCHEN Gefäßen: am einen Nukleolus Y-Sammelchromozentren. l 32-ploider (?) Kern aus dem Ausführungsgang der Speicheldrüse mit einem Sammelchromozentrum am Nukleolus. Ausstriche, Alk.-Eis., KES, Venez. Terp.

ist nur im männlichen Soma vorhanden und es sind allein die Y-Chromosomen somatisch heterochromatisch (Abb. 19i). Allerdings ist *Macrotylus quadrilineatus* ein cytologisch besonders ungünstiges Objekt, da die Chromosomen ausnehmend klein sind (vgl. Abb. 19 mit den vorhergehenden).

Die Geschlechtschromosomen sind wie bei *Lygus* SAT-Chromosomen (Abb. 19h-l). In der I. Metaphase läßt sich das X-Chromosom an seiner Größe und horizontalen Einordnung erkennen (Abb. 19a-c); in seiner

¹ Diese Abbildung ist mit der hier gegebenen Abb. 19 nicht unmittelbar vergleichbar, da sie nach Material gezeichnet wurde, das allein mit KES behandelt worden war.

unmittelbaren Nähe liegt das Y-Chromosom, beide zusammen befinden sich meist am Rand oder außerhalb der von den Autosomen gebildeten Platte (Abb. 19a, b); nur ausnahmsweise liegen die Geschlechtschromosomen zentral (Abb. 19c). In der Diakinese bleiben X und Y „gepaart“. In der II. Metaphase ist ein \pm regelmäßiger Autosomenring entwickelt, in dessen Innerem sich zwei oder drei Autosomen und das XY-Paar befinden (Abb. 19d, e).

In den Hodenseptenkernen sind die dem Nukleolus anliegenden Y-Chromosomen meist einzeln erkennbar und zählbar; Schwesterchromosomen hängen oft zusammen (Abb. 19i). In anderen polyploiden Kernen sind meist mehrere kleine Sammelchromozentren ausgebildet (Abb. 19j, k). Ein einziges großes Sammelchromozentrum kommt *regelmäßig* nur in den Kernen des Ausführungsganges der Speicheldrüse vor.

13. *Sigara (Callicorixa) carinata* SAHLB. (*Corixidae*).

Die Art tritt im Lunzer Obersee an den Rändern der Schwinggrasen in großen Mengen auf. Ende September finden sich Imagines und ältere Larven. Da in den Imagines die Samenreife weit vorgeschritten ist (vgl. auch PROKOFJEWA), sind für die Untersuchung der Spermatogenese die Larven am geeignetsten.

a) *Meiose*. Die Chromosomenzahl beträgt $11 + X(Y)^1$. In der I. Metaphase bildet sich der für die Corixiden bezeichnende Ring aus, in dessen Zentrum ein sehr kleines Autosom liegt (Abb. 20a—c). Innerhalb des Rings, wenn auch peripher, befindet sich ferner das nächst größere Autosom und, fast in Berührung mit dem X-Chromosom, das Y-Chromosom. Ein kleines Autosom ist gelegentlich nicht gepaart (oder die Partner werden vorzeitig getrennt) (Abb. 20b). X und Y sind in der mittleren Prophase völlig verklumpt; im Diplotän sind sie zu einer auffallend schwach färbbaren, dem Nukleolus angepreßten Masse zerflossen (Abb. 20j). Die enge Verbindung der Geschlechtschromosomen bleibt über die Diakinese hinaus erhalten.

In der II. Metaphase liegt das XY-Paar typischerweise im Zentrum, in seiner Nähe das kleinste und nächst größere Autosom, an der Peripherie bilden die restlichen Autosomen einen Ring (Abb. 20d, e); nicht selten kommen aber auch Modifikationen dieser Anordnung vor (Abbildung 20f—h).

b) *Somatische Kerne*. Im männlichen Soma ist das Y-Chromosom heterochromatisch und bildet in den meisten polyploiden Kernen ein großes Sammelchromozentrum oder mehrere kleinere Sammelchromozentren, die gewöhnlich dem Nukleolus anliegen (Abb. 20m); gelegentlich, z. B. in den Kernen der MALPIGHISCHEN Gefäße, findet man das Sammelchromozentrum auch vom Nukleolus entfernt liegen. In den Hodenseptenkernen, die außerordentlich flach sind und daher im Flächenbild sehr groß erscheinen, sind die Y-Chromosomen oft teilweise isoliert

¹ Die gleiche Zahl wurde bei allen bisher untersuchten Arten gefunden (PROKOFJEWA).

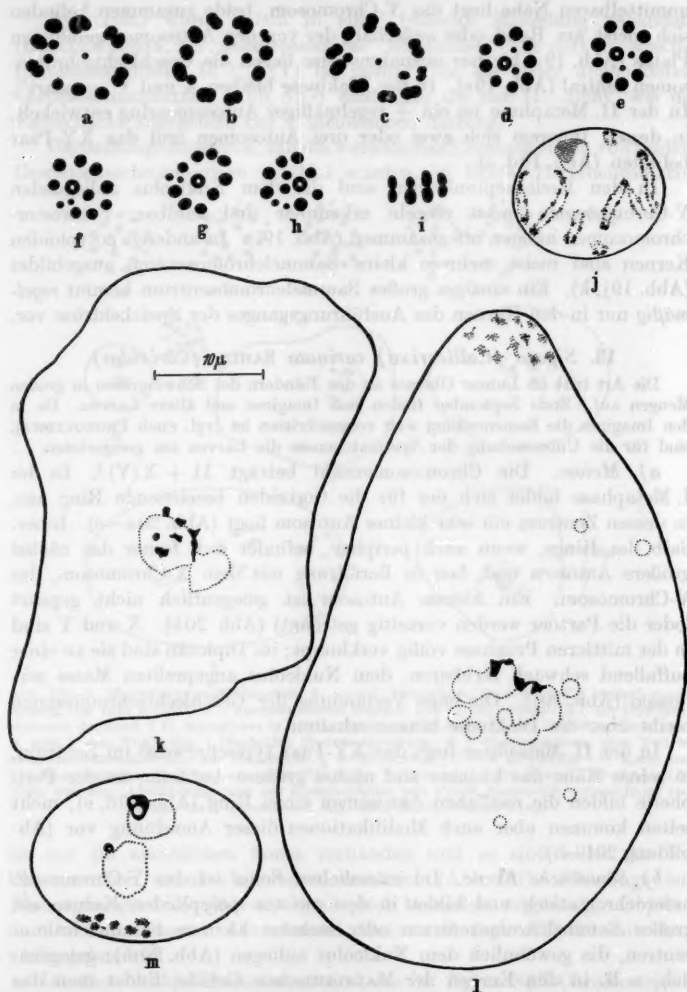


Abb. 20a—m. *Sigara (Callicorixa) carinata*, ♂. a—c I. Metaphase (am linken Rand XY), d—h II. Metaphase, zentral XY: d, e typische Anordnung mit zwei kleinen Autosomen innerhalb des Ringes. i II. Metaphase im Profil. j frühes Diplotän, am Nukleolus XY. k, l sehr flache Kerne der Hodensepten: k 16-ploid (8 Y am Nukleolus), l wahrscheinlich 32-ploid, mit knospendem Nukleolus, m wahrscheinlich 16-ploider Kern aus einem MALPIGHISCHEN Gefäß (in m unten und l oben sind einige Autosomen eingezeichnet). Ausstriche, Alk.-Eis., KES, Venez. Torp.

(Abb. 20k), meist aber unregelmäßig zusammengefloßen (Abb. 20l¹). In diploiden Kernen ist das Y-Chromosom meist unsichtbar; nur in den „aufgeblähten“ Gehirnkernen kann man es meist deutlich am Nukleolus erkennen. Nach allem sind auch bei *Sigara carinata* die Geschlechtschromosomen SAT-Chromosomen.

In den Kernen des weiblichen Somas fehlen naturgemäß die Y-Chromozentren. Doch treten auffallenderweise in den hochpolyploiden Kernen in Verbindung mit dem Nukleolus 1—3 Chromozentren auf, deren Gesamtmasse wesentlich kleiner als die der Y-Chromozentren in den entsprechenden Kernen des Männchens ist. In den (diploiden) Gehirnkernen ist keinerlei Heterochromatin zu erkennen. Es kann demnach nicht somatische Heterochromasie des X-Chromosoms vorliegen; vielleicht ist aber ein kleiner Teil desselben, etwa ein Trabant, heterochromatisch. Daß das kleinste Autosom oder ein Teil eines anderen Autosom heterochromatisch ist, ist nicht anzunehmen, da sich deren Heterochromasie auch in der meiotischen Prophase ausdrücken müßte.

Bei näherem Suchen lassen sich vermutlich homologe heterochromatische Körper neben den Y-Chromozentren auch in den Kernen des Männchens auffinden. So sieht man in dem auf Abb. 20m abgebildeten, verhältnismäßig niedrig polyploiden Kern neben dem Y-Sammelchromozentrum einen Körper, der in der Größe einem einzigen Y-Chromosom entspricht. Es ist unwahrscheinlich, daß es sich tatsächlich um ein isoliertes und noch dazu einem zweiten Nukleolus anliegendes Y-Chromosom handelt. Eine sichere Entscheidung ist in diesen und ähnlichen Fällen allerdings nicht möglich.

14. *Syromastes marginatus* (Coreidae).

Das Untersuchungsmaterial stammte aus der Umgebung des Wörthersees, wo an verschiedenen Stellen im August große „Fraßgesellschaften“ mit sämtlichen Larvenstadien und Imagines angetroffen wurden.

Die Art folgt, wie schon seit WILSONs Untersuchungen bekannt ist, dem XO-Typus und besitzt 10 Autosomenpaare (Abb. 21a—d); das X-Chromosom ist bekanntlich „zweiteilig“, so daß die diploide Chromosomenzahl im Männchen 22, im Weibchen 24 beträgt. Die von mir untersuchten Individuen stimmten in allen Merkmalen, im besonderen auch in der Morphologie des X-Chromosoms, mit den bisherigen Beschreibungen überein.

Das X-Chromosom ist nur in der Meiose heterochromatisch; im männlichen wie im weiblichen Soma fehlt jede Heterochromasie. Die Art verhält sich also wie *Gerris lacustris* und *Velia currens*, mit welchen ihr gemeinsam ist, daß das X-Chromosom relativ klein ist (GEITLER 1938a). Das Fehlen somatischer Heterochromasie ist auch deshalb

¹ Diese Figur dürfte zeigen, daß in den alten Kernen eine Art von Knospenbildung am Nukleolus stattfindet; die abgeschnürten Nukleolusknospen scheinen sich im Kernraum zu verteilen.

bemerkenswert, weil außer dem X-Chromosom noch andere Chromosomen bzw. Chromosomenabschnitte sich in der Meiose heterochromatisch verhalten¹.

Anhangsweise sei kurz auf *Pyrrhocoris apterus* hingewiesen. Wie es scheint, ist das X-Chromosom — die Art ist ein bekanntes Beispiel für den XO-Typus — nicht oder nicht typisch somatisch heterochromatisch. Eine endgültige Klärung konnte infolge unzureichenden Materials nicht erzielt werden, zumal sich eigentümlicherweise verschiedene Individuen anscheinend verschieden verhalten.

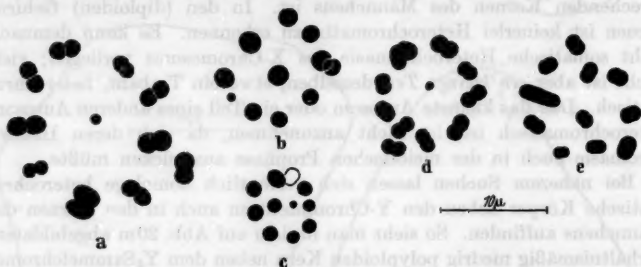


Abb. 21. a—d *Syromastes marginatus*, ♂. a, d I. Metaphase, b, c II. Metaphase (a, b nach Alk.-Eis. in KES, c, d in Venet. Terp.). e *Gerris lateralis*, ♂. I. Metaphase (behandelt wie c, d). X-Chromosom in a rechts außerhalb des Autosomenringes, in d unten außerhalb des Ringes, in b, c außerhalb der Äquatorebene (in b rechts, in c oben sichtbar); X-Chromosom in e groß, stabförmig, im Bild links.

15. Allgemeines.

Dem Verhalten von *Syromastes*, *Gerris lacustris* und *Velia currens*, die kleine X-Chromosomen und keine somatische Heterochromasie besitzen, steht das von *Gerris lateralis* gegenüber, die ein auffallend großes X-Chromosom (Abb. 21e) und ausgeprägte somatische Heterochromasie aufweist. Auch *Syromastes* fügt sich in die Hypothese ein, daß die relative Größe des X-Chromosoms entscheidend für das Zustandekommen der somatischen Heterochromasie ist (GEITLER 1938a). Unter Berücksichtigung des Verhaltens der Y-Chromosomen ergibt sich, daß es bei den Wanzen zweierlei verschiedene Arten von Heterochromasie gibt. Im einen Fall, der durch das X-Chromosom von *Gerris lateralis* und die Y-Chromosomen dargestellt wird, sind die Chromosomen gewissermaßen überladen mit Ballastsubstanzen, die während des ganzen Formwechsels nicht entsprechend mobilisiert werden können; im anderen Fall, den

¹ Diese Verhältnisse bedürfen weiterer Untersuchung. Es sei hier nur angedeutet, daß im späten Pachytän an einigen Chromosomen heterochromatische Abschnitte sichtbar werden, an welchen die betreffenden Chromosomen gewöhnlich verklumpt sind, so daß eine Art von Sammelchromozentrum entsteht, aus welchem die euchromatischen Arme „heraushängen“. Auch in der spermatogonialen Prophase erscheinen die entsprechenden Chromosomen zu einer Gruppe vereinigt. Außerdem sind anscheinend die Mikrochromosomen heterochromatisch.

die übrigen X-Chromosomen darstellen, zeigt sich nur eine vorübergehende Störung des „normalen“, euchromatischen Verhaltens in der meiotischen Prophase.

Aufbauend auf dem Begriff von Eu- und Heterochromatin, der Beziehung zwischen Genarmut und Heterochromatin (HEITZ 1929, 1933) und zwischen Armut an Chromomeren und Heterochromatin — im besonderen der Y-Chromosomen der Dipteren (BAUER 1936, PROKOFJEWA 1937) — läßt sich eine bestimmte Deutung des Verhaltens der Geschlechtschromosomen der Wanzen und darüber hinaus eine allgemeine Hypothese über die Heterochromasie geben.

Den extremen Fall von Heterochromasie, d. i. eines Verhaltens, das sich vom Formwechsel euchromatischer Chromosomen am stärksten unterscheidet, bilden die Y-Chromosomen der untersuchten Wanzen. Sie besitzen in sämtlichen Kernen dichte, „mitotische“ Beschaffenheit und sind in der Regel nicht fähig, sich in der Endoanaphase und -telophase zu trennen, bilden also Sammelchromozentren. Das X-Chromosom von *Gerris lateralis* ist zwar ebenfalls somatisch heterochromatisch, seine Chromatiden trennen sich aber häufig zu Ende der Endomitosen; allerdings ist eine gewisse Trägheit unverkennbar, da nicht selten Schwesterchromatiden vereinigt bleiben und da manchmal auch höherwertige Sammelchromozentren entstehen (GETTLER 1937, 1938a, 1939b). Bemerkenswert ist im übrigen am X-Chromosom von *Gerris lateralis*, daß es in der Diakinese eine Art von Abschmelzungsvorgang erfährt und dabei, wenn auch verspätet, einen der gewöhnlichen Zerstäubungsphase analogen Zustand durchmacht (GETTLER 1937). Die X-Chromosomen der übrigen Arten verhalten sich, gleichgültig ob der XO- oder XY-Typus vorliegt, während des gesamten somatischen Formwechsels euchromatisch, also wie die Autosomen. Erst zu Beginn der Meiose zeigt sich Heterochromasie, d. h. das Chromonema nimmt an der extremen Leptotänstreckung der Autosomen nicht teil und das Chromosom beginnt sich zu kondensieren; es geht gewissermaßen nach einer somatischen Prophase bald in den metaphasischen Zustand über. Besonders bemerkenswert ist es, daß sich bei *Palomena prasina* das X-Chromosom weniger heterochromatisch als das Y-Chromosom benimmt¹.

Diese Tatsachen lassen sich durch die Annahme verständlich machen, daß der normale euchromatische Formwechsel, also die Spiralisierung und Entspiralisierung in Mitose und Endomitose unter Zu- und Abnahme der Matrix, und also auch die Auflockerung im Ruhekern, vom Geninhalt gesteuert wird, und daß die Menge der Gene, oder morphologisch ausgedrückt, die Anzahl der Chromomeren, in einem bestimmten Verhältnis zur Masse des Chromosoms stehen muß, wenn Euchromasie eintreten soll. Es läßt sich vorstellen, daß die im Euchromatin liegenden

¹ Es scheint nicht ausgeschlossen, daß auch bei anderen Arten solche Unterschiede vorhanden sind, sich aber infolge der besonderen Untersuchungsschwierigkeiten der Beobachtung entziehen.

Chromomeren infolge ihrer dichten oder „lückenlosen“ Lagerung alle Abschnitte des Chromosoms beherrschen, während die im Heterochromatin in weiteren Abständen verstreuten Chromomeren unbeherrschte Räume bedingen¹.

In diesem Sinne läßt sich auch das Verhalten des X-Chromosoms von *Gerris lateralis* verstehen: seine auffallende Größe, die weit über der der Autosomen liegt, beruht auf Vorhandensein von Ballastsubstanz, also auf dem Mitschleppen chromomerenarmer Abschnitte. Den X-Chromosomen anderer Arten fehlt dieser Ballast, sie sind daher von gleicher Größenordnung wie die Autosomen und nicht somatisch heterochromatisch². Daß die Y-Chromosomen wesentlich kleiner und dennoch somatisch heterochromatisch sind, erklärt sich aus der — fast selbstverständlichen — Annahme, daß sie weniger Gene (Chromomeren) als die X-Chromosomen enthalten. Die somatische Heterochromasie der X-Chromosomen ist also einer bedeutenderen Größe als bei den Y-Chromosomen zugeordnet; bei *Picromerus bidens* sind X und Y nur wenig verschieden groß, dennoch ist allein das Y-Chromosom somatisch heterochromatisch.

Einschaltungsweise sei darauf hingewiesen, daß der hier angenommene, für die Y-Chromosomen der Dipteren bewiesene Schwund der Chromomeren nicht für alle ähnlich aussehenden heterochromatischen Bildungen, z. B. für jene Chromozentren der Blütenpflanzen gelten muß, welche im Pachytän in Chromomeren gegliedert erscheinen (DARLINGTON, GEITLER 1933 an *Agapanthus*, MARQUARDT an *Oenothera*). Allerdings zeigt die beträchtliche Größe der Chromomeren an, daß auch in solchen Fällen ein gewisses Mißverhältnis herrscht. Durch seine Trägheit im Formwechsel viel auffallender und mit den Y-Chromosomen ähnlicher ist aber jenes Heterochromatin, das sich in manchen Trabanten findet; die Substanz der „knobs“ von *Zea* gehört wohl auch hierher. Besonders bei *Sauromatum* läßt sich sein Verhalten in den stark heran-gewachsenen somatischen Ruhekernen genau verfolgen (vgl. GEITLER 1938c): es wird im Gegensatz zum Euchromatin und zum sonstigen Heterochromatin nicht aufgelockert.

Bei den Wanzen werden die Y-Chromosomen und das X-Chromosom von *Gerris lateralis* in den Somakernen nicht aufgelockert. Das Euchromatin wird zwar aufgelockert, erfährt aber in verschiedenen Geweben typisch verschiedene Auflockerung. In den meisten Kernen sind auch die euchromatischen Autosomen nicht viel anders als in den mittleren Mitosestadien ausgebildet. Eine starke Auflockerung erfolgt nur in wenigen Kerntypen, so z. B. in den Hodenseptenkernen und besonders weitgehend in den durch Kernsaftbildung aufgeblähten Ganglienkernen:

¹ Daß die Geschlechtschromosomen „degenerierte“ Chromosomen sind, hat schon GROSS angenommen; daß im besonderen das Y-Chromosom sich in phylogenetischer Reduktion befindet, wird durch das gesamte Tatsachenmaterial belegt.

² Nach dieser Auffassung kann vorausgesagt werden, daß das sehr große X-Chromosom von *Protenor belfragei* somatisch heterochromatisch ist.

hier erscheinen die Autosomen (und — abgesehen von *Gerris lateralis* — auch die X-Chromosomen) zu unregelmäßig umgrenzten, aus chromomerenartigen Körnchen aufgebauten Körpern verändert. Die Areale der einzelnen Chromosomen bleiben aber auch in diesen Fällen meist erkennbar.

Die Persistenz der Chromosomen als morphologisch distinkte Individuen im Ruhekern ist anscheinend eine *allen Wanzen zukommende konstitutionelle Eigentümlichkeit*¹. Es besteht, anders ausgedrückt, nur eine geringe Neigung, das Chromonema in der Telophase abzurollen und von der Matrix zu entblößen.

Im Anschluß an den Hauptgegenstand der Untersuchungen sei im folgenden kurz auf einige Nebenergebnisse eingegangen, welche die Anaphasebewegung, die Anordnung der Chromosomen in der Meiose und die Chromosomensystematik betreffen.

Die Chromatiden wandern in der somatischen Anaphase unter Beibehaltung der Lage, die sie in der Metaphase einnehmen, also unter „Parallelverschiebung“, auseinander; die Chromatiden folgen also nicht sichtbar dem Zug der „Zugfaser“, die Spindelansätze eilen nicht voraus². Dieses bezeichnende Verhalten läßt sich deutlich an allen Arten beobachten, sofern die Chromosomen genügend groß sind (entsprechende Bilder für die Spermatagonien von *Alydus* gibt REUTER, Taf. 1, 19, 20). In der gleichen Weise verhalten sich die X-Chromosomen in der I. meiotischen Teilung, die für sie ja einer somatischen Mitose entspricht. Im besonderen für das X-Chromosom von *Protenor* hat SCHRADER angenommen, daß an ihm die ganze Chromosomenlänge besetzende Zugfaserbündel vorhanden wären. Gegen diese unbefriedigende, mit allen anderen Kenntnissen über den Chromosomenbau in Widerspruch stehende Deutung lassen sich verschiedene Einwände erheben (vgl. GEITLER 1937 für *Gerris lateralis*, deren großes X-Chromosom sich wie das von *Protenor* verhält). Vor allem zeigen die meiotischen Anaphasen, daß, wie überall, Spindelansätze, und zwar terminale oder wohl subterminale, vorhanden sind. Daß gerade in der Meiose der typische, in der Mitose maskierte Mechanismus sichtbar wird, hängt offenbar mit dem Tetradenbau bzw. den vom Diplotän an wirkenden Abstoßungskräften zusammen. Durch die Entdeckung der Endomitosen und der Colchicinmitosen (vgl. besonders LEVAN und die dort angegebenen Schriften) rückt das Problem insofern in ein neues Licht, als sich zeigt, daß Chromatidentrennung ohne Spindelbildung und ohne Aktivierung der Spindelansätze möglich ist.

Die Anordnung der Chromosomen in der I. und II. Metaphase ist bei den untersuchten Arten wie bei den Wanzen im allgemeinen auffallend

¹ In manchen Kernen treten auch Anastomosen auf, wobei es allerdings fraglich bleibt, wieweit es sich um Fixierungsartefakte handelt (z. B. Abb. 6a, b).

² Ebenso verhalten sich auch manche *Spirogyra*-Arten und Ascomyceten.

bestimmt (vgl. zuletzt WILSON); nur bei *Eurydema* kommen stärkere Schwankungen vor (vgl. Text und Bilder). Die mechanischen Ursachen dieser Gesetzmäßigkeiten bleiben aber weiterhin unbekannt. So ist es nicht möglich, etwa die Lage von X und Y in der I. Metaphase aus ihrer Vorgeschichte, im besonderen aus ihrem Paarungsverhalten, zu verstehen: denn die Anordnung ist bei *Palomena* und *Lygaeus* gleich, obwohl bei *Palomena* engste prophasische „Paarung“, bei *Lygaeus* gar keine vorhanden ist. Es ist offenbar auch nicht maßgebend, ob nach anfänglich enger Vereinigung die Partner in der Diakinese sich frühzeitig trennen oder beisammen bleiben.

Der Vergleich der Chromosomensätze verschiedener Arten zeigt, daß die Zahl, Größe und Anordnung der Chromosomen für Familien bezeichnend ist (vgl. auch die Zusammenstellung bei BRESSLAU). So kommen bei den Pentatomiden niedere Zahlen vor; die meisten Arten besitzen wohl 6 Autosomenpaare; bei den Capsiden treten kleine und sehr kleine Chromosomenpaare in hoher Zahl auf; bei Gerriden und Verwandten herrschen Zahlen um 10 vor, Corixiden besitzen 11 ziemlich große Autosomenpaare und zeigen Ringanordnung (vgl. auch PROKOFEWA) usw. Wenn auch eine gewisse Streuung bemerkbar ist, so läßt sich doch unschwer der Familientypus erkennen.

16. Zusammenfassung.

Die Untersuchung von 16 Arten aus den Familien *Lygaeidae*, *Pentatomidae*, *Capsidae* und *Corixidae* ergibt, daß die Y-Chromosomen im Unterschied zu den X-Chromosomen somatisch heterochromatisch sind. Die Y-Chromosomen bilden in den polyploiden Somakernen in der Regel ein auffallendes Sammelchromozentrum; in gewissen Kernen bleiben sie getrennt. Die Sammelchromozentrenbildung beruht auf dem Unterbleiben des Auseinanderrückens der Tochterchromatiden in der Endoana- und Endotelophase (die Polyploidie entsteht allgemein auf dem Weg der Endomitose).

Bei mehreren Arten sind die Geschlechtschromosomen SAT-Chromosomen (nukleolenkondensierende Chromosomen). Abgesehen von der meiotischen Prophase läßt sich die Beziehung zwischen Geschlechtschromosomen und Nukleolus besonders deutlich in den diploiden, durch Kernsaftvermehrung stark vergrößerten Ganglienkernen beobachten.

Das relativ kleine unpaare X-Chromosom von *Syromastes marginatus* ist nicht somatisch heterochromatisch. Dies stimmt zu der früher für *Gerris*- und *Velia*-Arten gegebenen Deutung, daß die somatische Heterochromasie der X-Chromosomen von ihrer Größe abhängt.

Das Gesamtverhalten der Geschlechtschromosomen unter Berücksichtigung der bei den Dipteren herrschenden Verhältnisse legt die Annahme nahe, daß die Y-Chromosomen der Heteropteren nicht nur absolut, sondern auch relativ weniger Chromomeren als die somatisch euchromatischen X-Chromosomen enthalten. Es kann weiter angenommen werden,

daß die Chromomeren den Formwechsel der Chromosomen beherrschen und daß im Fall der Heterochromasie das normale (euchromatische) Verhältnis von Chromomerenzahl und Chromosomenmasse zuungunsten ersterer verändert ist. Das Heterochromatin läßt sich also als phylogenetisch rudimentäre, an den wesentlichen Steuerungsorganellen, den Chromomeren, verarmte Chromosomensubstanz auffassen. Daß das Heterochromatin und im besonderen die somatische Heterochromasie der Heteropteren keine wesentliche physiologische Bedeutung besitzen kann, folgt auch aus dem Vergleich nahe verwandter Arten, wie *Gerris lateralis* und *Gerris lacustris*, deren X-Chromosomen einmal somatisch euchromatisch, das andere Mal heterochromatisch sind.

Als Nebenergebnis werden Angaben über neue Chromosomenzahlen Familientypen und meiotische Anordnungen der Chromosomen mitgeteilt. In der Anaphase trennen sich die Chromatiden unter Parallelverschiebung (parallel zur Äquatorebene), ohne daß die Wirksamkeit des Spindelansatzes erkennbar wird; daß ein Spindelansatz vorhanden ist, ergibt sich aus dem Verhalten in der meiotischen Anaphase.

Literatur.

- Bauer, H.: Structure and arrangement of salivary gland chromosomes in *Drosophila* species. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 22 (1936). — Bresslau, E.: Tierische Chromosomenzahlen. Tabul. biol. 4 (1927). — Darlington, C. D.: Meiosis in *Agapanthus* and *Kniphofia*. Cytologia 4 (1933). — Depdolla, Ph.: Die Keimzellenbildung und die Befruchtung bei den Insekten. CHR. SCHRÖDERS Handbuch der Entomologie, Bd. 1. Jena 1928. — Geitler, L.: Das Verhalten der Chromozentren während der Meiose von *Agapanthus*. Österr. bot. Z. 82 (1933). — Die Analyse des Kernbaus und der Kernteilung der Wasserläufer *Gerris* usw. Z. Zellforsch. 26 (1937). — Über den Bau des Ruhekerns mit besonderer Berücksichtigung der Heteropteren und Dipteren. Biol. Zbl. 58 (1938a). — Die Entstehung der polyploiden somatischen Zellkerne bei Heteropteren durch wiederholte Chromosomenteilung ohne Spindelbildung und Kernteilung. Naturwiss. 26 (1938b). — Über das Wachstum von Chromozentrenkernen und zweierlei Heterochromatin bei Blütenpflanzen. Z. Zellforsch. 28 (1938c). — Gewebedifferenzierung und Zellkernwachstum durch Chromosomenvermehrung. Forschgn u. Fortschr. 1939 a. — Die Entstehung der polyploiden Somakerne der Heteropteren. Chromosoma 1 (1939b). — Groß, J.: Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung bei Insekten. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. 32 (1912). — Heitz, E.: Das Heterochromatin der Moose. Jb. Bot. 69 (1928). — Heterochromatin, Chromozentren, Chromosomen. Ber. dtsh. bot. Ges. 47 (1929). — Die somatische Heteropyknose bei *Drosophila melanogaster* und ihre genetische Bedeutung. Z. Zellforsch. 19 (1933). — Chromosomenstruktur und Gene. Z. Abstammungslehre 70 (1935). — Levan, A.: The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. Hereditas (Lund) 24 (1938). — Marquardt, H.: Die Meiose von *Oenothera*. Z. Zellforsch. 27 (1937). — Prokofjewa, A. A.: Vergleichend karyologische Studien von elf Arten der Familie *Corizidae*. Z. Zellforsch. 19 (1933). — The structure of the Y-chromosome in the salivary glands of *Drosophila melanogaster*. Genetics 22 (1937). — Reuter, E.: Beiträge zu einer einheitlichen Auffassung gewisser Chromosomenfragen. Acta zool. fenn. 9 (1930). — Schrader, F.: Notes on the behavior of long chromosomes. Cytologia 6 (1935). — Wilson, E. B.: Polyploidy and metaphase patterns. J. of Morph. 53 (1932).

(Department of Zoology, Columbia University, New York.)

THE STRUCTURE OF THE KINETOCHORE AT MEIOSIS.

by

FRANZ SCHRADER.

With 6 figures in the text.

(Eingegangen am 19. Juni 1939.)

Introduction.

The study of the kinetochore is fraught with so many technical difficulties that progress has been slow and hesitant. However, so important is this interesting cell organ that even negative findings are worth recording. Moreover in view of certain differences of opinion that have recently been voiced reiteration based on renewed investigation may not be without utility.

It must be patent to even the casual student that the basis of most of the difficulties lies not only in the small size of the kinetochore but also in the fact that no good technique has yet been discovered that makes detailed study always reliable. For some time I entertained the hypothesis that the almost perfectly preserved peripheral cells in material subjected to various fixing fluids containing osmic acid were most favorable. This seemed especially true if resulting in what is called overfixation in which the chromosomes have lost some of their affinity for chromatin stains. In such preparations the kinetochore often appears sharply differentiated from the main body of its chromosome.

However, the success of this method is not constant enough to warrant a generalization, even in the animals in which I have most employed it. Nevertheless the fact remains that the majority of successful preparations of amphibian material were obtained when the material was fixed with BENDA's fluid. On the other hand, NAWASCHIN's fluid was used in the preparation of plant material studied by *Trankowsky*, though his account does not justify any conclusion about the detailed effect of his fixation.

If extreme, however, overfixation is attended by failure and especially is this true when chondriosome stains are employed. Slides in which the kinetochore stands out most sharply with chondriosome methods usually also show the chondriosomes well defined. On the other hand not all chondriosome preparations show the kinetochore.

Finally, it seems established beyond doubt that some forms are much more favorable than others for the study of the kinetochore. In fact,

¹ I am indebted to the Carnegie Corporation for aid in my investigations. My thanks are also due to Dr. B. R. NEBEL of the N.Y. Agr. Exp. Station for the slide from which Fig. 5d was drawn as well as for technical suggestions.

for detailed study I have so far found no really favorable animals other than the amphibian. The meiotic kinetochores of some species of plants are preserved by a variety of fixing fluids and seem by no means as capacious as those of the animals I am familiar with. But, as will be pointed out beyond, this may be due to the special conditions of the first meiotic division, rather than to any intrinsic property of the plant kinetochore.

The foregoing, of course, applies only to the more precise features and detailed structure of the kinetochore. For its more general aspects the difficulties are not so great and in a considerable number of plants and animals the general kinetochore region of the chromosome is readily differentiated and recognized, usually standing out rather conspicuously as a faintly staining portion or even a gap in the chromosome. In that form it has become known as the primary commissure or constriction and as such it must be familiar to a great many investigators.

General structure.

In preparations where a more exact analysis of the kinetochore is possible, differentiation of the stain plays an important role. Thus in Champy-Kull preparations in which the chromosomes have not been greatly differentiated from the chondriosomes the kinetochore appears as a red spherical or semispherical region in the chromosome (Fig. 16, SCHRADER 1936). If the differentiation is greater the color of this region disappears leaving only the tiny granule which I have called spindle spherule because of its obvious relation to the half spindle fibers. In the chromosomes of the first spermatocyte of at least two Amphibia — *Amphiuma* and *Plethodon* — this spherule then appears to lie near the bottom of a concavity, the commissural cup, a fact which is not conspicuous until differentiation has been such as I have described. It is likely that in less differentiated preparations this cavity is obscured, at least in part, by the commissural material that is present before extreme differentiation and that in fact it may simply indicate the region formerly occupied by such material.

The commissural cup tends to become more shallow as the chromosome leaves its metaphase position and travels toward the pole. The spindle spherules then seem to lie at the surface of the chromosome or very close to it. It is a remarkable fact that in the first meiotic division of some plants this condition is not encountered. Instead, the structure that appears to correspond to the amphibian spindle spherule protrudes above the surface of the chromosome. In my preparations of *Tradescantia reflexa* such a spindle spherule may terminate a small mound but in most cases it appears at the end of a fine thread, often surprisingly long (Fig. 5). It is this appearance that caused NEBEL (1935) to compare the spherule and its thread to a pin.

The difference between the kinetochore of *Amphibia* and certain plants is of considerable interest. It may be a fixation effect, as I indicated in 1936, but certainly the difference persists in the face of a variety of fixing fluids. It is more likely therefore that we are dealing with a real difference, though I should like to suggest that this difference is not a basic one.

Whatever the explanation, it is the spindle spherule that is directly involved in the mitotic movement of the chromosome. Presumably the spherule is attached or connected in some way with the chromonema, as has been indicated by SHARP (1929), among others. If the body of the

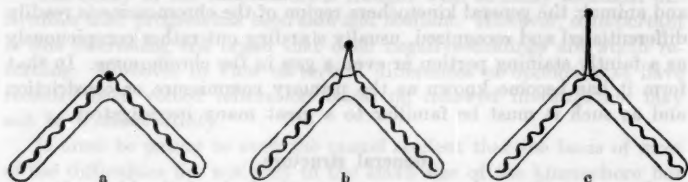


Fig. 1a—c. Hypothetical relations of spindle spherule to the chromonema and the chromatid. a *Amphiuma*, b *Zea*, c *Tradescantia*.

chromosome offers sufficient resistance in mitotic movement the spherule may actually be pulled away from the chromosome, with only the attenuated chromonema maintaining the connection. This condition is shown diagrammatically in Fig. 1c and is especially well represented in the first meiotic division of *Tradescantia reflexa*, though in the actual preparations the chromonematic connections appear as a single, not a double, thread. If resistance to mitotic separation in a tetrad is less extreme one might expect such a condition as is shown in Fig. 1b, which is encountered, for instance, in *Zea*. Here the chromonematic threads at each side of the spherule form a loop which is readily seen. If in still other forms the resistance of the chromosome is even less than in *Zea* the form of the kinetochore may be that shown in Fig. 1a where the spherule remains closely applied to the chromosome body. Such is the case in *Amphiuma* and, indeed, this would also be the condition to be expected in somatic mitoses where chromosome separation occurs with little resistance. It is as a result of meiotic prophase phenomena (chiasmata and end attraction) that special resistance to chromosome separation occurs. Obviously different species vary in this respect, but certainly under normal conditions, when a form shows such marked effects of tension on the spindle spherule and the chromonema, it is always in the first meiotic division. Indeed, in the second meiotic division of *Tradescantia* the spindle spherule usually does not protrude at all and cases of even slight protrusion, such as are shown in Figs. 6d and e, are rather exceptional. This explanation receives still further support from TRANKOWSKY whose illustrations of

somatic divisions in various plants show that the spherule is practically flush with the surface of the chromosome, indicating that there, as in the second meiotic division, there is little tension.

The kinetochore during meiosis.

In his recent paper DARLINGTON (1939) has expressed some doubt as to the actuality of a division in the kinetochore prior to the second meiotic metaphase. He suggests that the doubleness seen in *Amphiuma* is an artifact and he does not further consider my findings in that case. A reiteration of those findings may therefore not be entirely out of place, especially in the light of their bearing on DARLINGTON's precocity theory.



Fig. 2a—d. *Amphiuma* tetrads showing kinetochore in a late diplotene, b early diakinesis, c mid diakinesis, d late diakinesis (all fixed in Benda).

It will be recalled that in the early diplotene phase the kinetochore appears merely as a none too sharply outlined dark body in each of the paired chromosomes (Fig. 2a) but already in early diakinesis this body shows indubitable indication of division (Fig. 2b) and in mid diakinesis there can be no doubt that such division has taken place and that each chromatid is then provided with such a body. These, at that time still slightly elongated bodies I named spindle spherules. However, such stages in diakinesis, as shown in Fig. 2d, seem to provide evidence that the sister spindle spherules are not free to separate from each other at this time, for it is at the kinetochore that the chromatids evidently are held together except possibly under unusual conditions.

The presence of two spindle spherules in each of the two kinetochores of a tetrad becomes even clearer as the first meiotic division proceeds. From meiotic metaphase to early telophase the distance between the two spindle spherules increases and the anaphase chromosomes of Fig. 3 show what is probably the maximum separation that can be observed with our present technique. It is probable that this separation is due chiefly to a slight swelling of the chromosomes to be observed in *Amphiuma* at this time.

To make the demonstration even more pointed each of the two spherules is at anaphase frequently seen connected with its own spindle

element (Fig. 3). The spherules can be traced into the telophase and occasionally even into an early resting phase when the outline of the chromosomes has already become vague (Fig. 4a and b).



Fig. 3. Anaphase chromosomes of *Amphiuma* in first meiotic division, showing separate spindle elements for each spherule (BENDA).

In *Tradescantia* the spindle furnishes no such support, for the two spherules are together connected with a single sheaf of fine fibers (Fig. 5a). The spherules here, however, show strikingly that we are not concerned with an artifact for, while they are evidently held together at the base,

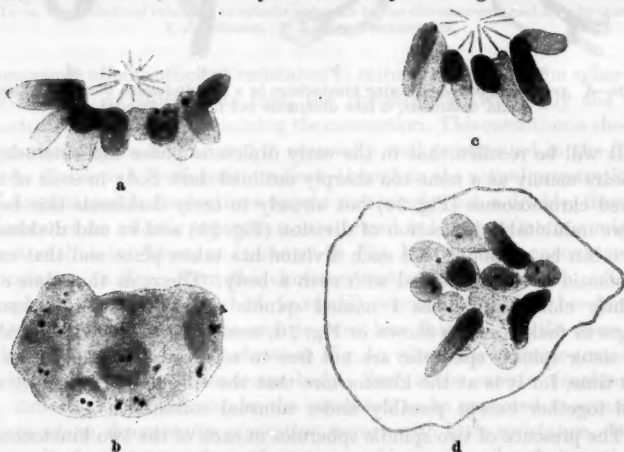


Fig. 4a—d. a telophase of first meiotic division in *Amphiuma*, with chromosome outlines becoming vague, b resting phase still showing pairs of spindle spherules, c telophase of second meiotic division in side view, d in polar view (all fixed in Benda).

the spherules at the tips of the threads frequently diverge from each other (Fig. 5 and 6). If we are here dealing with a process involving what DARLINGTON terms clotting, then surely the evidence is clear that such clotting always occurs definitely in sharply delimited localities in each of the four chromatids. In short, at the very worst we are concerned with what BĚLAŘ called a "vital artifact". It may be recalled that NEBEL (1935) actually reported a subdivision of the divided kinetochore

at this time but, though I have sometimes seen what may be indications of such a process (Fig. 6c), I have not been able thoroughly to convince myself of this observation. In the anaphase and telophase of the second meiotic division of *Amphiuma*, only a single spherule can be seen with certainty (Fig. 4c and d).

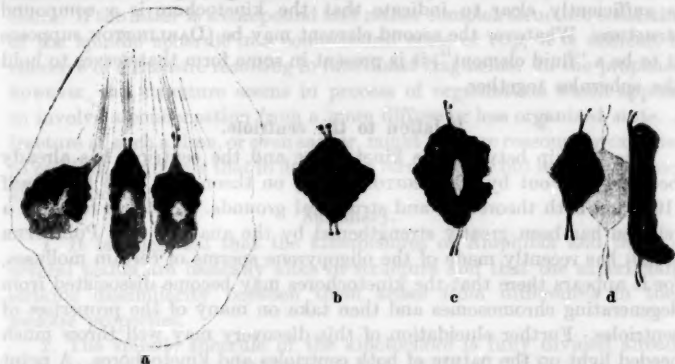


Fig. 5a—d. Metaphase or early anaphase of first meiotic mitosis in *Tradescantia reflexa* fixed with a Nawashin, b Benda, c Nawashin, d Nobel (pretreatment with Carnoy and after treatment with osmic acid and platinum chloride. NEBEL 1932). Spindle spherules less conspicuous in NEBEL's fluid.

It must be evident that these findings have a definite bearing on DARLINGTON's precocity theory. Superficially, at least, a division of the kinetochore prior to the second meiotic division would appear to run counter to his ideas of timing in the various meiotic processes. DARLINGTON has been aware of this, as his categorical statements (DARLINGTON

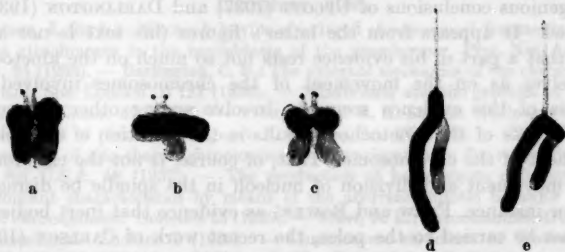


Fig. 6a, b and c. Late first anaphase chromosomes of *Tradescantia reflexa* (NAWASHIN). d and e anaphase chromosomes of *Tradescantia* in second meiotic division (NAWASHIN).

1939, p. 341) fully attest and perhaps his attitude on the division of the kinetochore is not uncolored by the convictions there stated. Though by no means prepared to subscribe to the precocity theory, I am nevertheless constrained to point out, as I did in 1936, that the division of the spindle spherule before the first meiotic metaphase does not in

itself destroy that theory. It is evident that some other structural unit serves to hold each pair of spherules together until the second division, and that is all that the theory demands. But even if my cup or commissural mass (SCHRADER 1936) be not accepted as such a binding element in the kinetochore, the meiotic behavior of the spherules as just described is sufficiently clear to indicate that the kinetochore is a compound structure. Whatever the second element may be (DARLINGTON supposes it to be a "fluid element") it is present in some form that serves to hold the spherules together.

Relation to the centriole.

The kinship between the kinetochore and the centriole has already been pointed out by DARLINGTON (1936) on theoretical, and by myself (1936) on both theoretical and structural grounds. Evidence for such a relation has been greatly strengthened by the analysis that POLLISTER (1939) has recently made of the oligopyrene sperms of certain molluscs, for it appears there that the kinetochores may become dissociated from degenerating chromosomes and then take on many of the properties of centrioles. Further elucidation of this discovery may well throw much needed light on the nature of both centrioles and kinetochores. A point of great interest in this connection arises from the finding of several investigators that chromosomes are occasionally broken in such a way that the fracture takes its path through the kinetochore. Kinetochore fragments thus produced evidently may be functional at times for the resulting chromosome fragments continue to participate regularly in the mitotic process. But close examination of the evidence for these cases is warranted by the importance of the conclusions and it is perhaps not unfair to say that a more exact cytological study is desirable before the ingenious conclusions of UPCOTT (1937) and DARLINGTON (1939) are accepted. It appears from the latter's figures (his text is not always clear) that a part of his evidence rests not so much on the kinetochores themselves as on the movement of the chromosomes involved. His analysis of this evidence seems to involve among other assumptions that the loss of the kinetochore results in the cessation of the poleward movement of the chromosome. That, of course, is not the case for even if the movement and division of nucleoli in the spindle be disregarded (see, for instance, FREW and BOWEN) as evidence that inert bodies may at times be carried to the poles, the recent work of CARLSON (1938) is sufficient to indicate that chromosomes without kinetochores may well reach the spindle poles, though their motion may be irregular.

No such objections can be made to the cases reported by MCCLINTOCK (1932, 1938; RHOADES and MCCLINTOCK 1935), where X-raying of chromosomes resulted in breaks through the kinetochore and the resulting chromosome fragments underwent perfectly normal mitotic movement in succeeding generations of cells. MCCLINTOCK's evidence is clear

and there is no escape from the conclusion that kinetochore fragments, not resulting from mitotic division but by fracture, may be functional.

Older and unanswered questions regarding the nature of the centriole may well receive reconsideration in the light of further study of these questions, which also allows another tentative step in the study of the kinetochore. If the latter is a compound and rather complex structure consisting of the spindle spherule in a commissural mass or cup, it is difficult to conceive of a fracture resulting in functional fragments. In the prophase, however, this structure seems in process of organization which appears to involve a condensation from a more diffuse or less organized state. A fracture at such a time, or even earlier, might be more reasonably expected to result in fragments that in due course form smaller but regularly formed kinetochores.

Summary.

1. It is suggested that the kinetochores of Amphibia and those of several plants are basically alike in structure and that the superficially striking dissimilarity between them arises from differences in their meiotic properties.

2. The spindle spherule of the kinetochore is fully divided already in the late prophase of the first meiotic division.

3. It is reiterated that the kinetochore is a compound body and that the element directly involved in mitosis is the spindle spherule which lies in a commissural mass or cup.

4. It is suggested that there is some reorganization of the kinetochore at every mitotic cycle and that functional fragments, such as reported by Mc CLINTOCK, originate at a time when the final form shown in metaphase has not yet been assumed.

Literature cited.

- Carlson, J. Gordon: Mitotic behavior of induced chromosomal fragments lacking spindle attachments in the neuroblasts of the grasshopper. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 24 (1938). — Darlington, C. D.: The external mechanics of the chromosomes. *Proc. Roy. Soc. London. B* 121 (1936). — Misdivision and the genetics of the centromere. *J. Genet.* 37 (1939). — Frew, P. and R. H. Bowen: Nucleolar behavior in the mitosis of plant cells. *Quart. J. Microsc. Sci.* 73 (1929). — McClintock, B.: A correlation of ring-shaped chromosomes with variegation in *Zea mays*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 18 (1932). — The production of homozygous deficient tissues with mutant characteristics by means of the aberrant mitotic behavior of ring-shaped chromosomes. *Genetics* 23 (1938). — Nebel, B. R.: Chromosomenstruktur VI. Ein Ausschnitt. *Züchter* 7 (1935). — Chromosome structure in *Tradescantia* I. *Z. Zellforsch.* 16 (1932). — Pollister, A. W.: Centrioles and chromosomes in the atypical spermatogenesis of *Vivipara*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 25 (1939). — Rhoades, M. M. and B. McClintock: The cytogenetics of maize. *Bot. Rev.* 1 (1935). Schrader, Franz: The kinetochore or spindle fibre locus in *Amphiuma tridactylum*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Labor. Wood's Hole* 70 (1936). — Sharp, L. W.: Structure of large somatic chromosomes. *Bot. Gaz.* 88 (1929). — Trankowsky, D. A.: Leitkörperchen der Chromosomen bei einigen Angiospermen. *Z. Zellforsch.* 10 (1930). — Upcott, M.: The behavior of the centromere at meiosis. *Proc. Roy. Soc. London. B* 124 (1937).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Abteilung A. KÜHN, Berlin-Dahlem.)

ÜBER DEN EINFLUSS DES MUTTERALTERS AUF DEN FAKTORENAUSTAUSCH IM X-CHROMOSOM VON *DROSOPHILA PSEUDOOBSCURA*.

Von

GEORG GOTTSCHESKI.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Mai 1939.)

I. Einleitung.

Bei der Analyse verschiedener Erbfaktoren von *Drosophila pseudoobscura*, die die Lebensfähigkeit der Zygoten aus den Kreuzungen: *D. pseudoobscura* $A \times D. pseudoobscura$ $B-F_1$ -Bastard- $\varnothing\varnothing$ (A/B - $\varnothing\varnothing$) $\times A$ - oder B - $\delta\delta$ beeinflussen, war aufzuklären, wie sich 1. diese Faktoren in den Kreuzungen innerhalb der Art *A* von *D. pseudoobscura* verhalten, und ob 2. ein Einfluß des Mutteralters auf die Ausprägung dieser Faktoren bestand. Die ausführliche Veröffentlichung dieser Ergebnisse erfolgt an anderer Stelle. Ihre Auswertung brachte ein zusätzliches Resultat: Es wurde eine positive Korrelation zwischen Mutteralter und Häufigkeit der Austauschvorgänge festgestellt. Über die Korrelation zwischen Mutteralter und Faktorenaustausch liegen bei *D. pseudoobscura* keine und bei anderen *Drosophila*-Arten widersprechende Ergebnisse vor. Aus diesem Grunde schien eine Veröffentlichung der bei *D. pseudoobscura* gefundenen Beziehungen angebracht. Es ist untersucht worden, ob sich mit dem Mutteralter die Häufigkeit der Rekombinationen insgesamt oder nur die bestimmter Chromosomenabschnitte änderte, und ob das Mutteralter einen Einfluß auf den Austauschvorgang als solchen, insbesondere auf das Verhältnis von einfachem zu mehrfachem Austausch ausübte.

Methode.

Folgende Stämme von *Drosophila pseudoobscura* sind im Versuch benutzt worden. 1. Art *A*: *bd m se sp* (*beaded*-1—21, 9; *miniature*-1—70, 9; *sepia*-1—112, 7; *snapt*-1—153, 7) und *Texas* („Wildstamm“). 2. Art *B*: *Seattle*-6 („Wildstamm“).

In der Serie α (Faktorenaustausch in $\varnothing\varnothing$ der Art *A*) war zunächst das *bd m se sp*-X-Chromosom sechs bzw. acht Generationen über *Texas* geführt. Die heterozygoten *bd m se sp*/++++- $\varnothing\varnothing$ wurden dann mit *Texas*- $\delta\delta$ (*A*) rückgekreuzt und deren Nachkommen ausgezählt. In der Serie β (Faktorenaustausch in A/B -Bastard- $\varnothing\varnothing$) wurden die für *bd m se sp* heterozygoten A/B - $\varnothing\varnothing$, die aus der Kreuzung *bd m se sp* \times *Seattle*-6 entstanden, mit *A*- $\delta\delta$ rückgekreuzt.

Sechzehn Phänotypenklassen waren in den α - und β -Serien zu erwarten: Die 0-Doppelklasse = kein Faktorenaustausch; die 1-, 2- und 3-Doppelklassen = einfacher Faktorenaustausch in den Regionen: 1 (*bd-m*), 2 (*m-se*) und 3 (*se-sp*); die 1,2-, 1,3- und 2,3-Doppelklassen = doppelter Faktorenaustausch in den Regionen:

1 und 2 (*bd-m-se*), 1 und 3 (*bd-m se-sp*) sowie 2 und 3 (*m-se-sp*); die 1, 2, 3-Doppelklasse = dreifacher Faktorenaustausch in den Regionen 1, 2 und 3 (*bd-m-se-sp*).

In beiden Serien wurden die Elterntiere zunächst drei Tage in Röhrchen gehalten und dann in fünf aufeinanderfolgenden Passagen (I—V) je vier Tage in normalen Kulturbedingungen (23° C) gelassen. In α waren je 3 ♀♀ mit je 3 ♂♂ zusammengesetzt (12 Kulturen, 36 ♀♀); in β waren dagegen einzelne ♂♂ zu je 3 ♀♀ zugesetzt worden (160 Kulturen, 480 ♀♀). Die Auszählung begann nach dem Schlüpfen der ersten ♂♂, und jede Kultur wurde dann täglich bis zum Schlüpfen der letzten Tiere ausgerechnet.

II. Serie α .

Die Tabelle 1 bringt die Experimentalwerte der Serie α . Die 6. Spalte gibt die Gesamtindividuenzahl (Σ) jeder Klasse, die 7. Spalte die entsprechenden Prozente vom Gesamtwert N an. In der letzten Spalte ist

Tabelle 1.

Phänotypus	I	II	III	IV	V	Σ	$\Sigma \% \pm m$	D/m
$\frac{++++}{bd\ m\ se\ sp}$ 0	307	242	231	173	144	1097	$\frac{12,8}{\pm 0,36}$ $\frac{10,7}{\pm 0,34}$	4,25
$\frac{bd++++}{+m\ se\ sp}$ 1	155	147	122	102	100	626	$\frac{7,31}{\pm 0,3}$ $\frac{7,8}{\pm 0,3}$	1,16
$\frac{bd\ m++++}{++se\ sp}$ 2	160	134	120	121	112	647	$\frac{7,58}{\pm 0,3}$ $\frac{8,69}{\pm 0,3}$	2,65
$\frac{bd\ m\ se+}{++++sp}$ 3	169	130	96	90	102	587	$\frac{6,86}{\pm 0,28}$ $\frac{6,73}{\pm 0,28}$	0,32
$\frac{bd+se\ sp}{+m++++}$ 1,2	98	90	83	97	91	459	$\frac{5,36}{\pm 0,25}$ $\frac{5,29}{\pm 0,23}$	0,19
$\frac{bd\ m+sp}{++se+}$ 2,3	43	70	69	56	52	290	$\frac{3,4}{\pm 0,2}$ $\frac{3,84}{\pm 0,21}$	1,5
$\frac{bd++++sp}{+m\ se+}$ 1,3	66	83	66	64	58	337	$\frac{3,95}{\pm 0,21}$ $\frac{5,1}{\pm 0,24}$	3,47
$\frac{bd+se+}{+m+sp}$ 1,2,3	43	43	39	45	38	208	$\frac{2,44}{\pm 0,17}$ $\frac{2,23}{\pm 0,16}$	0,9
N =	2036	1908	1692	1501	1421	8558	100,08	J = 1,12

der Unterschied zwischen den reziproken Klassen durch D/m^1 ausgedrückt. Davor stehen die Passagenwerte I—V.

Die Abweichungen der Mittelwerte jeder einzelnen Kultur und jeder Passage von dem jeweiligen entsprechenden Gesamtmittelwert aller zwölf Kulturen liegen innerhalb der Fehlergrenzen. Aus diesem Grunde sind die Ergebnisse aller 12 α -Einzelserien zusammengefaßt. Die Berechtigung hierfür weist der Heterogenitätstest (Tabelle 1) nach, durch den geprüft wurde, mit welcher Wahrscheinlichkeit die 12 Passagenreihen I—V und die 12 Summenwerte innerhalb jeder Passage und in ihren Endsummen bzw. von Passage zu Passage übereinstimmen. Die Formel, die hier für χ^2 angewandt wurde, ist folgende:

$$\chi^2 = (\Sigma [a_1 \%^2 / n_1 + \dots + a_x \%^2 / n_x] - \Sigma a \%^2 / \Sigma n) \times \Sigma n^2 / \Sigma a \% \times (x \times 100 - \Sigma a \%),$$

wobei n = Anzahl der Individuen, a = beobachtetem Prozentsatz einer Klasse von dem Gesamtklassenwert und x = Anzahl der Klassen ist.

Tabelle 2¹.

	I	II	III	IV	V	Σ
χ^2	18,636	14,834	13,002	13,139	5,370	19,286
Frgr.	11	11	11	11	11	11
P	0,1—0,05	0,2—0,1	0,3—0,2	0,3—0,2	0,95—0,9	0,1—0,05
χ^2	29,106					
Frgr.	4					
P	< 0,01					

Während die zwölf Kulturserien sich innerhalb jeder Passage und in ihren Σ -Werten nicht voneinander unterscheiden ($P > 0,05^2$), ist der Unterschied zwischen den einzelnen Passagen statistisch gesichert ($P < 0,01$).

Aus der Tabelle 1 geht hervor, daß der Unterschied zwischen den reziproken Klassen in drei Fällen statistisch gesichert ist: $++++ : bd\ m\ se\ sp$ ($D/m = 4,25$), $bd\ m\ ++ : ++\ se\ sp$ ($D/m = 2,65$) und $bd\ ++\ sp : ++\ m\ se$ ($D/m = 3,47$). Dieser Befund läßt sich dadurch erklären, daß die Faktoren bd und in geringem Maße auch m und sp

¹ D/m ist gleich dem Quotienten: Differenz der %-Werte zweier komplementärer Klassen, dividiert durch den mittleren Fehler der Differenz. $D/m < 3$ bedeutet, die Differenz liegt innerhalb, bei $D/m > 3$ außerhalb des dreifachen mittleren Fehlers der Differenz. Die Zahlen im Fettdruck bedeuten, daß hier die Wahrscheinlichkeit, daß die getesteten Abweichungen zufallsgemäß sind, kleiner als 5% oder größer als 1,96 D/m ist. Aber erst Abweichungen, deren Wahrscheinlichkeit kleiner als 1% oder größer als 2,58 D/m ist, gelten als statistisch gesichert.

² $P > 0,05$ bedeutet, daß die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Ereignis sich wiederholt, größer als 5% ist. Nur die Werte kleiner als 0,05 bedeuten eine bezeichnende Abweichung. $P < 0,01$ besagt, daß ein Ereignis sich in weniger als in einem von hundert Fällen wiederholen wird. Diese Abweichung gilt als statistisch gesichert. Frgr. = Freiheitsgrade.

die Lebensfähigkeit herabsetzen, die Mutante *se* dagegen besser lebensfähig ist als *se*⁺. Es liegt nicht an einer unvollständigen Penetranz der *bd*-, *m*- oder *sp*-Klassen, weil in den Kombinationsklassen mit *se*, z. B.: *bd se*, *m se*, *se sp* usw., mehr Individuen schlüpfen als in den entsprechenden komplementären. Werden die Individuenzahlen aller größeren Teilklassen addiert und durch die Summe aller kleineren dividiert, so erhalten wir den Asymmetrieindex *J* (vgl. LUDWIG 1938). Die Werte der Serie α ergeben für *J* den Quotienten 1,12 und sind deshalb nach den Berechnungen von LUDWIG für eine nähere Analyse geeignet.

In der Tabelle 3 ist angegeben, mit wieviel Prozent des Gesamtwertes jeder der fünf Passagen die verschiedenen möglichen Klassen vertreten sind. Die Abweichungen zwischen den aufeinanderfolgenden Passagen (I—V) sind in D/m-Werten angegeben. Die erste Spalte bringt die Gesamtwerte ($\Sigma\% \pm m$) der einzelnen Klassen, berechnet in Prozent der Gesamtzahl aller Individuen. In der drittletzten Spalte sind die D/m-Werte für den Unterschied zwischen dem Minimum und dem Maximum zu finden. Hier geben die römischen Zahlen über dem jeweiligen D/m-Wert an, welcher Passagenwert das Minimum (linke Zahl) bzw. das Maximum (rechte Zahl) darstellt. In den beiden letzten Spalten sind χ^2 und *P* für die einzelnen Klassen eingefügt, wodurch geprüft wurde, mit welcher Wahrscheinlichkeit die einzelnen Passagenwerte jeder Klasse übereinstimmen. Da fünf Passagenwerte vorliegen, ergeben sich für alle χ^2 der Tabelle 3 vier Freiheitsgrade. Berechnet ist χ^2 nach der Formel: $\chi^2 = [\Sigma \times (a_i^2/n_1 + \dots + a_v^2/n_v) - \Sigma a_i^2 \cdot \Sigma n_{i-v}] \times \Sigma n_{i-v} / \Sigma a_{i-v} \times (\Sigma n_{i-v} - \Sigma n_{i-v}) a =$ Anzahl der Austauschindividuen der betreffenden Klasse und der jeweiligen Passage, *n* = Gesamtindividuenzahl der entsprechenden Passage.

Statistisch gesichert ist der Unterschied zwischen dem Minimum und Maximum der 0-Reihe (D/m=4,9); der 2- (D/m=2,92) und 3-Reihe (D/m=2,9); der 2, 3- (D/m=3,95) und der 1, 2 + 2, 3 + 1, 3-Reihe (Zusammenfassung sämtlicher nur doppelter Austauschvorgänge; D/m=3,49); der M-Reihe (Mehrfach austauschklassen insgesamt; D/m=3,95); der „2“-Reihe (sämtliche Rekombinationen in der Region 2; D/m=3,54); und der Σ -Reihe (gleich Summenwerte sämtlicher Faktorenaustauschklassen des X-Chromosoms zusammen; D/m=4,88). In der E-Reihe sind alle nur einfachen Austauschklassen zusammengefaßt; in der „1“-Reihe alle Rekombinationen der Region 1 ohne Berücksichtigung der Regionen 2 und 3 aufgeführt; entsprechendes gilt für die „2“- und „3“-Reihen. Bezeichnend ist der Unterschied zwischen dem III. und V. Passagenwert bei einer Zusammenfassung sämtlicher einfacher Rekombinationen (E; D/m=2,28) und dem II. und V. Passagenwert der Klasse des dreifachen Austausches (1, 2, 3; D/m=2,0).

Falls die Häufigkeit, mit der ein Faktorenaustausch eintritt, vom Mutteralter unabhängig ist, müßten alle Passagenwerte dieselben

Tabelle 3.

	$\bar{x} \pm m$	$\frac{D}{m}$ I-II	II $\pm m$	$\frac{D}{m}$ II-III	III $\pm m$	$\frac{D}{m}$ III-IV	IV $\pm m$	$\frac{D}{m}$ IV-V	V $\pm m$	$\frac{D}{m}$ Min.- Max.	\bar{x}^1	P
0	$23,50 \pm 0,4$	3,8	$23,20 \pm 1,0$	0,8	$24,00 \pm 1,1$	2,2	$21,50 \pm 1,0$	0,7	$20,40 \pm 1,0$	I-V 4,9	25,123	< 0,01
1	$15,11 \pm 0,4$	1,4	$16,40 \pm 0,8$	1,7	$14,35 \pm 0,9$	0,2	$14,65 \pm 0,9$	0,6	$15,45 \pm 1,0$	II-III 1,7	3,537	0,5-0,3
2	$16,27 \pm 0,4$	0,5	$14,41 \pm 0,8$	2,5	$16,74 \pm 1,0$	1,9	$18,15 \pm 1,0$	1,4	$16,68 \pm 1,0$	II-IV 2,9	9,702	0,05-0,02
3	$13,56 \pm 0,4$	1,6	$13,80 \pm 0,8$	1,9	$11,72 \pm 0,8$	1,3	$13,09 \pm 0,9$	1,3	$14,80 \pm 0,9$	III-I 2,9	8,872	0,1-0,05
E	$44,97 \pm 0,4$	0,7	$44,61 \pm 1,1$	1,0	$42,81 \pm 1,2$	1,7	$45,89 \pm 1,3$	0,6	$46,93 \pm 1,3$	III-V 2,3	4,719	0,5-0,3
1, 2	$10,65 \pm 0,4$	0,1	$10,00 \pm 0,7$	0,4	$10,40 \pm 0,8$	1,3	$11,90 \pm 0,8$	0,4	$11,52 \pm 0,8$	I-V 1,5	5,639	0,3-0,2
2, 3	$7,24 \pm 0,3$	3,4	$8,02 \pm 0,6$	0,6	$8,74 \pm 0,7$	2,5	$6,47 \pm 0,7$	1,5	$7,88 \pm 0,7$	I-III 4,0	21,072	< 0,01
1, 3	$9,05 \pm 0,3$	2,1	$9,95 \pm 0,7$	1,0	$9,1 \pm 0,7$	0,1	$9,23 \pm 0,8$	0,4	$8,87 \pm 0,7$	I-II 2,1	4,757	0,7-0,5
1, 2 + 3 + 1, 3	$26,94 \pm 0,5$	2,1	$27,97 \pm 1,0$	0,2	$25,34 \pm 1,1$	0,4	$27,60 \pm 1,1$	0,4	$28,27 \pm 1,2$	I-III 3,5	28,486	< 0,01
1, 2, 3	$4,66 \pm 0,2$	0,1	$4,20 \pm 0,5$	1,1	$4,96 \pm 0,6$	1,2	$4,85 \pm 0,6$	0,4	$5,20 \pm 0,6$	II-V 2,0	3,196	0,7-0,5
M	$31,60 \pm 0,5$	3,3	$32,17 \pm 1,0$	0,6	$33,20 \pm 1,2$	0,4	$32,45 \pm 1,2$	0,5	$33,47 \pm 1,2$	I-V 4,0	20,815	< 0,01
„1“	$39,50 \pm 0,5$	2,0	$40,50 \pm 1,1$	1,0	$38,80 \pm 1,2$	1,1	$40,70 \pm 1,3$	0,1	$40,90 \pm 1,3$	I-V 2,1	8,518	0,1-0,05
„2“	$38,70 \pm 0,5$	0,6	$36,50 \pm 1,1$	2,3	$41,00 \pm 1,2$	0,2	$41,40 \pm 1,2$	0,2	$41,10 \pm 1,3$	I-IV 3,5	31,146	< 0,01
„3“	$34,60 \pm 0,5$	0,8	$34,20 \pm 1,1$	0,2	$34,60 \pm 1,2$	0,6	$33,60 \pm 1,2$	1,4	$36,00 \pm 1,3$	I-V 2,0	2,907	0,7-0,5
Σ	$72,99 \pm 0,4$	3,1	$76,78 \pm 0,94$	0,82	$76,0 \pm 1,0$	2,18	$78,48 \pm 1,0$	0,77	$79,59 \pm 1,0$	I-V 4,88	13,46	< 0,01

Rekombinationsprozente aufweisen. Statistisch gesichert ($P < 0,01$) sind die Abweichungen der θ -, 2, 3-, 1, 2+2, 3+1, 3-, M-, „2“- und Σ -Klassen. Bezeichnend sind die Abweichungen ($P < 0,05$) der Rekombinationswerte der einzelnen Passagen in der 2-Reihe.

Um die einzelnen Klassenwerte miteinander zu vergleichen, sind in der Tabelle 4 die P-Werte eingetragen, die bei dem Vergleich zweier

Tabelle 4.

	I	II	III	IV	V
1—2	0,98—0,95	0,05—0,02	0,5—0,3	0,1—0,05	0,9—0,8
1—3	0,2—0,1	0,5—0,3	0,5—0,3	0,98—0,95	0,9—0,8
2—3	0,2—0,1	0,2—0,1	0,1—0,05	0,2—0,1	0,95—0,9
1, 2—2, 3	0,05—0,02	0,2—0,1	0,1—0,05	0,1—0,05	0,95—0,9
1, 2—1, 3	0,7—0,5	0,2—0,1	0,8—0,7	0,5—0,3	0,5—0,3
1, 2—1, 2, 3	0,95—0,9	0,8—0,7	0,5—0,3	0,8—0,7	0,8—0,7
2, 3—1, 3	0,2—0,1	0,98—0,95	0,2—0,1	0,3—0,2	0,5—0,3
2, 3—1, 2, 3	0,2—0,1	0,2—0,1	0,5—0,3	0,5—0,3	0,9—0,8
1, 3—1, 2, 3	0,8—0,7	0,2—0,1	0,7—0,5	0,9—0,8	0,8—0,7
„1“-„2“	0,7—0,5	0,2—0,1	0,3—0,2	0,7—0,5	0,7—0,5
„1“-„3“	0,95—0,9	0,8—0,7	0,8—0,7	0,5—0,3	0,95—0,9
„2“-„3“	0,7—0,5	0,1—0,05	0,7—0,5	0,2—0,1	0,8—0,7
E—M	< 0,01	0,7—0,5	0,1—0,05	0,9—0,8	0,7—0,5
E— Σ	0,2—0,1	0,8—0,7	0,5—0,3	0,95—0,9	0,8—0,7
E— θ	0,02—0,01	~ 0,7	0,2—0,1	0,2—0,1	0,02—0,01
M— Σ	0,1—0,05	0,8—0,7	0,3—0,2	0,9—0,8	0,8—0,7
M— θ	< 0,01	0,7—0,5	0,7—0,5	0,1—0,05	< 0,01
θ — Σ	< 0,01	0,8—0,7	0,7—0,5	0,1—0,05	< 0,01

Klassen gefunden sind. Das zu dem eingetragenen P gehörige χ^2 ist nach der Formel: $\frac{(a_1 - 1 \times a_2)^2}{1 \times (a_1 + a_2)}$ berechnet. Der P-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der zwei entsprechende Klassenwerte (a_1 und a_2) voneinander verschieden sind, wenn durch eine Multiplikation mit dem Faktor 1 der Σ -Wert der Klasse a_2 dem Σ -Wert der Klasse a_1 angenähert ist ($1 \times \Sigma a_2 = \Sigma a_1$). Statistisch gesichert sind die Unterschiede in der I. Passage zwischen den einfachen (E) und den mehrfachen (M) Faktorenaustauschwerten, dem „Kein-Faktorenaustausch-Wert“ (θ) gegenüber dem Summenwert (Σ) sämtlicher Faktorenaustauschklassen der Passage I und dem M-I-Wert. Ferner ist der Unterschied zwischen M-V und θ -V sowie θ -V und Σ -V kleiner als 0,01 P. Bezeichnend sind die Unterschiede der 1, 2- und 2, 3- sowie der E- und θ -I-Passagenwerte, zudem die 1- und 2-, die „2+3“- und „1+3“- der II. und die E- und θ -Werte der V. Passage.

Die Unterschiede zwischen den in diesem Experiment (Exp) gefundenen und den Standard-(St)-Genabständen betragen:

Region		Exp	St-Exp
1	bd—m	39,5	—9,5
2	m—sc	38,7	—3
3	sc—sp	34,6	—6,4

Die Differenz zwischen den Werten dieses Experimentes und den Standardabständen ist darauf zurückzuführen, daß infolge der relativ großen Abstände zwischen den einzelnen Genen eine Anzahl doppelter Austauschvorgänge unentdeckt geblieben sind. Ein gewisser Vorteil dieser großen Genabstände liegt darin, daß keine Interferenzerscheinungen zu erwarten waren (vgl. unten). Die einzelnen Regionen unterscheiden sich aber in zwei sehr wesentlichen Punkten voneinander: 1. Die Regionen 1 und 3 liegen in dem linken bzw. rechten Schenkel des X-Chromosoms, getrennt durch die Spindelfaseransatzstelle. 2. Die Mittelregion (2) umfaßt die Spindelfaseransatzstelle und enthält das heterochromatische Chromosomenmaterial. Das Heterochromatin ist nicht gleichmäßig auf beide proximalen Enden verteilt; der weitaus größte Teil liegt im linken Schenkel.

Einfacher Faktorenaustausch.

Region 1 und Region 3. Die Häufigkeit, mit der Rekombinationen nur in der Region 1 bzw. nur in der Region 3 auftreten, ist anscheinend von dem Mutteralter unabhängig. Bei einem Vergleich zwischen beiden Regionen fällt es auf, daß beide Male relativ hohe Anfangswerte vorliegen. Der einfache Faktorenaustausch in der Region 3 ist am häufigsten bei 4—7 Tage alten Müttern. Der Abfall zu dem Passage III-Wert (12 bis 15 Tage alte ♀♀) ist statistisch gesichert. In der Region 1 sind die Rekombinationen am häufigsten bei 8—11 Tage alten ♀♀. Das Minimum liegt auch hier bei der III. Passage. Die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Faktorenaustausch in der Region 1 oder 3 in 16—19 bzw. 20 bis 23 Tage alten ♀♀ zu erwarten ist, ist beidemale dieselbe.

Region 2. Ganz anders verhält sich die Region 2. Der höchste Prozentsatz wird in der IV. Passage erreicht; aber schon der Anstieg von dem II. zum III. Passagenwert ist bezeichnend. Zudem ist hier die Wahrscheinlichkeit, daß die Unterschiede der einzelnen Passagenwerte der Region 2 sich zufällig voneinander unterscheiden, $< 0,05$.

Da keine statistisch gesicherten Unterschiede zwischen den drei Regionen (vgl. Tabelle 4) bestehen, ist eine Zusammenfassung sämtlicher einfachen Faktorenaustauschwerte zu einer *E*-Klasse erlaubt (vgl. Tabelle 3 und Abb. 1). Bei einer Auswertung dieser *E*-Werte, ist aber hervorzuheben, daß der hohe *E*-Anfangswert der I. Passage auf den hohen Rekombinationswert der Region 3 und der relativ niedrige der III. Passage auf die niedrigen Prozentwerte der Regionen 1 und 3 zurückzuführen sind (vgl. oben).

Mehrfacher Austausch.

Da ein zweischenkliges Chromosom vorliegt, die Genabstände zudem mehr als 40 Morgan-Einheiten betragen, ist zu erwarten, daß einem Faktorenaustausch in der einen Region ein zweiter in einer anderen zufallsgemäß zugeordnet sein wird. Falls also der positiven Korrelation zwischen Mutteralter und einfachem Austausch in der 2. Region eine

reale Bedeutung zukommt, falls weiter keine Abhängigkeit der Austauschprozentsätze der einzelnen Passagen in den 1- und 3-Reihen der Tabelle 3 von dem Mutteralter besteht, und falls schließlich die doppelten Austauschvorgänge in der gleichen Weise von dem Mutteralter abhängig sind wie die einfachen, wäre daher für den linken (1, 2), den rechten Chromosomenschenkel (2, 3) und das ganze Chromosom (1, 2, 3) eine positive Korrelation zwischen Rekombinationsprozenten und zunehmendem Mutteralter zu erwarten. Wir finden erwartungsgemäß einen stetigen, wenn auch statistisch nicht zu sichernden Anstieg der Prozentwerte für gleichzeitigen Faktorenaustausch in den 1 und 2 sowie in den 1, 2 und 3 Regionen.

Anders verhält es sich bei den Passagenwerten für doppelte Austauschvorgänge im rechten Schenkel des X-Chromosoms (2, 3). Die Heterogenität dieser Passagenwerte ist statistisch gesichert ($P < 0,01$). Hier liegen aber der II. und III. Passagenwert statistisch gesichert zu hoch, die Werte I und IV zu tief. Für die 1, 3-Rekombinationen (distale Regionen) ist obigen Annahmen entsprechend eine zufallsgemäße Anordnung zu finden ($P = 0,7-0,5$). Bei der Zusammenfassung sämtlicher mehrfacher Rekombinationswerte zu der *M*-Klasse werden wir, obwohl die in der Tabelle 4 errechneten *P*-Werte für den Unterschied zwischen den mehrfachen Austauschklassen mit einer Ausnahme alle größer als 0,05 sind, bei einer Beurteilung der *M*-Werte (vgl. Tabelle 3 und Abb. 1) in Rechnung ziehen müssen, daß der Verlauf der 2, 3-Werte nicht obigen Erwartungen entspricht.

Der Vergleich der einfachen und mehrfachen Faktorenaustauschvorgänge.

Ein Vergleich zwischen den Prozentwerten des einfachen Faktorenaustausches (*E*) mit denen des mehrfachen (*M*) (vgl. Tabelle 4), zeigt einen statistisch gesicherten Unterschied nur in den Werten der Passage I ($P < 0,01$). Das bedeutet hier eine Bevorzugung des einfachen und Herabsetzung des mehrfachen Austausches. Vergleichen wir diesen *M-I*-Wert mit den 1-I-, 2-I- und 3-I-Werten, so ist nur der Rekombinationswert der I. Passage für den einfachen Faktorenaustausch in der Region 3 zu hoch ($P < 0,01$). Die Berechnung des Koinzidenz- und des sich daraus ergebenden Interferenzwertes wirft ebenfalls ein Licht auf das Verhältnis zwischen einfachem und mehrfachem Austausch. Aus den verschiedensten Berechnungen für das X-Chromosom verschiedener *Drosophila*-Arten ist anzunehmen, daß die Reichweite der Interferenz zwischen 35 und 50 Morgan-Einheiten beträgt. In zweiteiligen Koppelungsgruppen (z. B. II. und III. Chromosom von *D. melanogaster*) erstreckt sich die Interferenz jeweils nur über einen Chromosomenschenkel. Für das X-Chromosom von *D. pseudoobscura* wäre per analogiam eine rein zufallsgemäße Anordnung der Austauschvorgänge zu erwarten; d. h. der Koinzidenzwert *C* müßte gleich 1 sein. Liegt eine positive Interferenz vor, so ist die Häufigkeit der Mehrfach austauschvorgänge herabgesetzt

($C < 1$), bei einer negativen Interferenz gilt das Umgekehrte ($C > 1$). In der Tabelle 5 wurde C nach der Formel berechnet:

Gesamtindividuenzahl \times Doppelaustauschwert a , b
einfacher Austauschwert im 1. Intervall $a \times$ einfachem Austausch im 2. b-Intervall

Die mittleren Fehler der Koinzidenzwerte sind berechnet aus der Formel: $m_C = C \times \sqrt{\frac{1 - C \times (a + b)}{a \times b}}$, wobei a und b die gefundenen Werte des einfachen Austausches der beiden Intervalle a und b und C die der errechneten Koinzidenzwerte darstellen.

Tabelle 5.

		I	II	III	IV	V	Σ
1, 2	$C =$	1,088	0,977	1,240	0,990	0,989	0,998
	$m_C =$	0,09	0,08	0,12	0,09	0,09	0,039
	$D/m =$	0,9	0,2	2,06	0,08	0,9	
1, 3	$C =$	1,020	0,970	1,050	1,030	0,950	0,999
	$m_C =$	0,083	0,051	0,103	0,083	0,086	0,040
	$D/m =$	0,2	0,4	0,5	0,3	0,5	
2, 3	$C =$	0,835	0,925	1,030	0,810	0,890	0,880
	$m_C =$	0,061	0,076	0,096	0,068	0,081	0,028
	$D/m =$	0,7	0,5	1,5	0,9	0,1	

In der rechten Spalte (Σ) ist das C aus den Gesamtwerten ($I + II + III + IV + V$) berechnet.

Die Gleichartigkeit der Ergebnisse in 1, 2 und 1, 3 scheint ein Hinweis dafür zu sein, daß den Abweichungen des III-Wertes in 1, 2- und denen aller 2, 3-Werte eine reale Bedeutung zukommt.

Folgendes können wir aus den in Tabelle 5 dargestellten Ergebnissen schließen: Die Austauschvorgänge im linken Schenkel (1, 2; $C = 1$) und ebenso die zwischen der distalen Region des linken und der des rechten des X-Chromosoms (1, 3; $C = 1$) verlaufen in gegenseitiger Unabhängigkeit. Das C-I, 2-III weist auf einen bezeichnenden Unterschied zwischen einfachen und doppelten Austauschvorgängen dieser Region hin.

Gleichzeitige Rekombinationen in 1 und 2 sind bei 12—15 Tage alten Müttern häufiger als einfache (negative Interferenz).

Die positive Interferenz der I-, IV- und V-Werte in 2, 3 weist hier dagegen auf eine Bevorzugung der einfachen gegenüber den doppelten Rekombinationen hin. Der III- und wahrscheinlich auch der II-Wert deuten einen relativen Anstieg der doppelten Austauschvorgänge, verglichen mit dem Mittelwert, an. Mit diesen Ergebnissen wird aber auch der Widerspruch zwischen den im Abschnitt „Mehrfacher Austausch“ postulierten Annahmen und vor allem den Ergebnissen erklärt, die in den 2, 3-Regionen erhalten wurden. Es besteht ein realer Unterschied zwischen den Austauschvorgängen im linken und rechten Chromosomenschenkel des X-Chromosoms von *D. pseudoobscura*. Im linken Schenkel (1, 2) finden wir keine Interferenz; im rechten (2, 3) dagegen eine positive.

Wird die Region der Spindelfaseransatzstelle nicht berücksichtigt (1, 3), so besteht erwartungsgemäß keine Interferenz der distalen Regionen.

Eine Ausnahme bildet der III-Wert der 1, 2- und 2, 3-Reihen. Die Zunahme der mehrfachen Austauschvorgänge gegenüber den einfachen ist auffallend. Wahrscheinlich bedeutet auch der C-Wert in II-2, 3 eine reale Erhöhung der doppelten Austauschvorgänge gegenüber denen der I. Passage.

Vergleichen wir schließlich die totalen Rekombinationsprozente der einzelnen Regionen „I“, „2“ und „3“ (vgl. Tabelle 3 und 4), so finden wir entsprechend den obigen Ergebnissen nur für die 2-Region eine statistisch gesicherte Abhängigkeit des Faktorenaustausches vom Mutteralter ($P < 0,01$). In den „I“- und „3“-Regionen sind die Abweichungen zufallsgemäß ($P > 0,05$).

Der Versuch, die Ergebnisse graphisch darzustellen, stößt zunächst auf die Schwierigkeit, die einzelnen Werte direkt miteinander vergleichbar zu machen. Methodisch am besten scheint es zu sein, die Abweichungen der einzelnen Passagenwerte (I—V) (Abszisse) vom Mittelwert (Koordinatenschnittpunkt) durch den Quotienten D/m (Ordinate) auszudrücken. Der Nachteil, daß 1. der Mittelwert als solcher schon einen mittleren Fehler hat, und 2., daß infolge zu geringer Individuenzahlen in einzelnen Klassen D/m relativ kleiner ist als die entsprechenden absoluten Abweichungen, wird dadurch aufgewogen, daß sämtliche Werte eines Faktorenaustauschversuches direkt miteinander vergleichbar sind. In der Abb. 1 sind folgende Klassen einander gegenübergestellt: Keinfaktorenaustausch (θ , o-----o), Summe sämtlicher nur einfachen Austauschvorgänge (E , o---o), Summe sämtlicher nur mehrfachen Austauschvorgänge (M , o----o) und Faktorenaustauschsummenkurve (Σ , o—o). Nur der Verlauf der E -Kurve ist statistisch nicht gesichert. Die θ -Kurve verläuft reziprok der Σ -Kurve. Die absoluten Prozente für den Anstieg der Σ -Kurve sind $6,6\% \pm 1,35$ und für den der M -Kurve $5,9\% \pm 1,5$. Bis auf den III-Wert der Σ -Kurve ist ein stetiges Ansteigen der Faktorenaustauschprozente mit dem Mutteralter deutlich. Die Unterschiede im I- und V-Wert zwischen der θ - und Σ -Kurve sind statistisch gesichert; desgleichen die zwischen denselben Passagenwerten der M - und θ -Kurve. Bezeichnend sind die I-E und - θ und V-E und - θ Unterschiede (vgl. Tabelle 4).

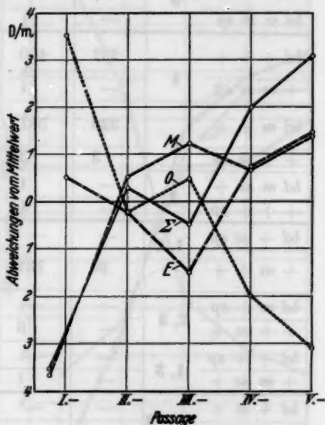


Abb. 1. Die Abhängigkeit des Faktorenaustausches in Weibchen der Art A vom Mutteralter. Figurenerklärung siehe Text.

III. Serie β .

Die in den Versuchen der Serie β gefundenen Experimentalwerte sind in der Tabelle 6 zusammengestellt. Die Ergebnisse in dieser und in der

Tabelle 6.

Phänotypus	I	II	III	IV	V	Σ	$\Sigma \% \pm m$
++++ 0	4344	5901	5097	3817	2452	21611	81,22 $\pm 0,25$
bd m se sp	—	1	—	—	4	5	0,018
bd +++ 1	232	400	481	366	270	1749	6,6 $\pm 0,16$
+ m se sp	—	1	—	—	3	4	0,015
bd m ++ 2	320	581	664	587	388	2540	9,55 $\pm 0,18$
++ se sp	3	3	1	—	1	5	0,018
bd m se + 3	—	1	—	—	1	2	0,007
+++ sp	—	1	—	—	—	1	0,0037
bd + se sp 1, 2	—	—	1	1	—	2	0,007
+ m ++	94	137	173	137	102	643	2,43 $\pm 0,1$
bd m + sp 2, 3	—	—	—	—	—	—	—
++ se +	—	8	12	12	9	41	0,15
bd + + sp 1, 3	—	—	—	—	1	1	0,0037
+ m se +	—	1	1	1	3	6	0,022
bd + se + 1, 2, 3	—	—	1	1	—	2	0,007
+ m + sp	—	—	—	—	—	—	—
N =	4990	7035	6431	4922	3234	26612	100,05

Tabelle 7 sind in derselben Weise dargestellt wie die der Serie α in den Tabellen 2 und 3. In der Serie β ist zunächst zu berücksichtigen, daß zwei Faktoren, die im *bd m se sp*-Chromosom liegen, das Aufkommen der für beide oder einen dieser Faktoren homozygoten Söhne der *A/B*-Bastard- $\varnothing\varnothing$

Tabelle 7.

	$\Sigma \% \pm m$	I% $\pm m$	D/m I—II	II % $\pm m$	D/m II—III	III % $\pm m$	D/m III—IV	IV % $\pm m$	D/m IV—V	V % $\pm m$	D/m Min- Max.	P
0	81,24 $\pm 0,25$	87,02 $\pm 0,48$	4,95	83,85 $\pm 0,43$	6,99	79,26 $\pm 0,50$	2,21	77,55 $\pm 0,59$	1,82	75,82 $\pm 0,76$	I—V 12,50	< 0,01
Σ	18,77 $\pm 0,25$	12,98 $\pm 0,48$	4,93	16,15 $\pm 0,43$	6,99	20,74 $\pm 0,50$	2,20	22,45 $\pm 0,59$	1,67	24,16 $\pm 0,76$	I—V 12,18	< 0,01
„1“	9,28 $\pm 0,18$	6,55 $\pm 0,35$	2,25	7,65 $\pm 0,31$	4,87	10,2 $\pm 0,42$	0,13	10,28 $\pm 0,43$	1,92	11,70 $\pm 0,59$	I—V 7,50	< 0,01
„2“	12,18 $\pm 0,21$	8,3 $\pm 0,3$	4,34	10,32 $\pm 0,35$	5,60	13,3 $\pm 0,40$	2,65	15,00 $\pm 0,50$	0,64	15,50 $\pm 0,60$	I—V 10,70	< 0,01

verhindern; der eine liegt in der Nähe von *sp*, der andere zwischen *m* und der Spindelfaseransatzstelle. Dazu kommt, daß durch „seltene Überlebende“, wie wir es auch für eine Anzahl von Letalfaktoren bei *D. melanogaster* kennen, hier die tatsächlich vorhandene Anzahl der Faktorenaustausch-♂♂ nur annäherungsweise zu bestimmen ist. Wegen der geringen Anzahl der Individuen aller Klassen mit *sp* sind deshalb die Region 3 und alle doppelten Austauschklassen in der Tabelle 7 von vornherein vernachlässigt. Es sind hier nur die Prozente der θ = Keinfaktorenaustauschklassen, der Σ -Klasse = Zusammenfassung sämtlicher Faktorenaustauschklassen und die Klassen aller feststellbaren Rekombinationen in den Regionen „1“ und „2“ aufgeführt.

Eigentlich besitzt aus den angeführten Gründen nur eine Gegenüberstellung der „+“-Klasse der Serie α und der Serie β (vgl. Tabelle 8) einen Vergleichswert. In der Tabelle 8 sind die absoluten Abweichungen beider „+“-Klassen vom Mittelwert umgerechnet auf 5% Gesamtanstieg \pm ihrem mittleren Fehler und in der dritten Reihe die Differenz zwischen beiden Serien $\pm m$ der Differenz eingetragen. Die Gleichheit des Verlaufes der Prozentwerte beider Serien ist eindeutig.

Offensichtlich ist aus dem Verhalten der „+“-Nichtaustauschklassen beider Serien zu schließen, daß auch die Korrelation zwischen Mutteralter und der Gesamtaustauschhäufigkeit in α und β dieselbe sein wird.

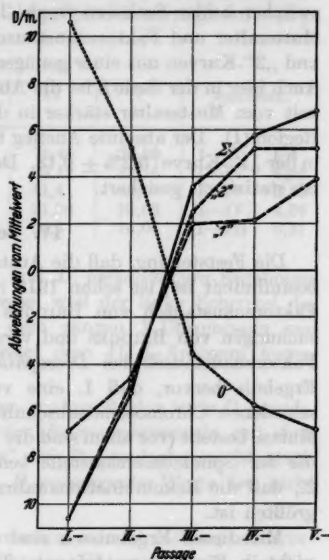


Abb. 2. Die Abhängigkeit des Faktorenaustausches in A/B-Bastardweibchen vom Mutteralter. Figurenerklärung siehe Text.

Tabelle 8.

	I %	II %	III %	IV %	V %	
A/B $\pm m$	+ 2,58 $\pm 0,48$	+ 1,17 $\pm 0,43$	- 0,88 $\pm 0,5$	- 1,64 $\pm 0,59$	- 2,42 $\pm 0,76$	Serie α
A/A $\pm m$	+ 2,3 $\pm 0,8$	- 0,15 $\pm 0,7$	+ 0,90 $\pm 0,89$	- 1,3 $\pm 0,82$	- 2,7 $\pm 0,77$	Serie β
D $\pm m$	0,28 $\pm 0,93$	1,32 $\pm 0,82$	1,78 $\pm 1,02$	0,34 $\pm 1,01$	0,28 $\pm 1,08$	

In der Abb. 2 sind die Werte der Serie β der Tabelle 7 in derselben Weise graphisch dargestellt wie die der Serie α in der Abb. 1. Der Maßstab der Ordinate dieser Abb. 2 verhält sich zu dem der Abb. 1 wie 1:2. Dies Verhältnis wurde gewählt, um in beiden Serien ungefähr das gleiche Verhältnis von D/m zur Gesamtindividuenzahl zu erhalten. Aus den oben angeführten Gründen wird darauf verzichtet, die einzelnen Regionen zwischen beiden Serien zu vergleichen. Die positive Korrelation zwischen Mutteralter und Faktorenaustausch ist durch den Verlauf der Σ -, „1“- und „2“-Kurven mit einer genügenden statistischen Sicherung bewiesen. Auch hier in der Serie β ist die Abhängigkeit der Rekombinationshäufigkeit vom Mutteralter stärker in der Mittelregion (2) als in der distalen Region (1). Der absolute Anstieg beträgt in der „2“-Kurve $7,2\% \pm 0,21$, in der „1“-Kurve: $5,2\% \pm 0,18$. Der Unterschied zwischen beiden Werten ist statistisch gesichert.

IV. Besprechung.

Die Feststellung, daß die Austauschhäufigkeit durch das Mutteralter beeinflusbar ist, ist schon 1915 in einer der ersten Arbeiten über den Faktorenaustausch von BRIDGES gemacht. Aus den späteren Untersuchungen von BRIDGES und verschiedenen anderen Autoren über den Faktorenaustausch bei *Drosophila melanogaster* geht als gemeinsames Ergebnis hervor, daß 1. eine verschiedene Empfindlichkeit der verschiedenen Chromosomenabschnitte gegenüber dem Alterszustand der Mutter besteht (vor allem sind die Faktorenaustauschwerte in der Region, die der Spindelfasersatzstelle benachbart ist, besonders sensibel) und 2., daß die Rekombinationswahrscheinlichkeit bei jungen Müttern am größten ist.

Mit diesen Ergebnissen sind einige der Befunde von RECK (1937) nicht in Einklang zu bringen. Die Σ -Werte für alle Austauschklassen in den 25⁰-Versuchen von RECK, die in Hinblick auf die optimale Haltungstemperatur den hier mitgeteilten 23⁰-Versuchen vergleichbar sind, stimmen für die Gesamtaustauschvorgänge in einer 1—20 Tage alten Mutter mit den vergleichbaren bei *D. pseudoobscura* überein. Nur der Wert für die II. Passage ist bei *D. pseudoobscura* im Vergleich zu dem Σ -Wert von *D. melanogaster* zu hoch ($D/m > 3$). In den Experimenten von RECK läßt sich nur für die am weitesten distal gelegene Region 1 (y—cv) ein statistisch gesicherter Anstieg mit dem Mutteralter finden (absoluter Anstieg = 5,94%). Für die der Spindelfaseransatzstelle am nächsten liegende Region 6 (B—bb) ist ebenso wie für die anderen Regionen des X-Chromosoms von *D. melanogaster* keine positive Korrelation zwischen Mutteralter und Austauschhäufigkeiten festzustellen; zum Teil sind die Anfangswerte höher als die Endwerte. Das Ergebnis von RECK, daß die Rekombinationswerte der Region 6 nicht „Mutteralter“-abhängig sind, steht im Widerspruch zu älteren Angaben. Neue Ver-

suche müßten hier zunächst entscheiden, ehe wir nach irgendwelchen Erklärungen für dieses Verhalten suchen.

In der folgenden Tabelle 9 sind die Prozentsätze folgender Klassen eingetragen (die Werte, die RECK erhalten hat, sind auf 4 Tage-Intervalle umgerechnet): Gesamtaustauschwerte *D. pseudoobscura* A/A-♀♀ (Σ -ps) und *D. melanogaster* (Σ -mel), Gesamtaustausch in der distalen Region I von *D. melanogaster* (I-mel) und in den „Spindelfaserregionen“ (2-ps bzw. 6-mel).

Tabelle 9.

	I %	II %	III %	IV %	V %	Min.-Max. %
Σ -ps	72,99	76,78	76,00	78,48	79,59	I—V 6,4
Σ -mel	76,10	77,66	80,31	83,12	82,76	I—IV 6,66
„2“-ps	35,6	36,5	41,0	41,4	41,1	I—IV 3,54
„1“-mel	16,5	20,02	20,38	21,08	20,63	I—IV 4,58
„6“-mel	13,47	13,61	14,61	14,3	14,04	I—III 0,87

Ein Vergleich der *D. melanogaster* und *D. pseudoobscura*-Ergebnisse ist vor allem auch deshalb von Interesse, weil der linke Schenkel des X-Chromosoms von *D. pseudoobscura* dem ganzen X-Chromosom von *D. melanogaster* und der rechte Schenkel dem III-L-Autosom homolog sind.

Eine der Region I bei *D. melanogaster*- analoge Region ist in *D. pseudoobscura* nicht getestet. Der Anstieg der Austauschprozente mit dem Mutteralter in der „Spindelfaserregion“ bei *D. pseudoobscura* ist statistisch gesichert; eine Sicherung der *D. melanogaster*-Werte ist nicht möglich.

Soweit Ergebnisse über das X-Chromosom von *D. melanogaster* vorliegen, bestehen keine statistisch gesicherten Unterschiede in der Abhängigkeit des Verhältnisses einfacher zu mehrfachen Rekombinationen vom Mutteralter. Auch die *D. pseudoobscura*-Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß eine solche Änderung nicht erfolgt. Damit scheint keine Veränderung der Austauschvorgänge einzutreten. Ein Einfluß auf die Art der Vorgänge könnte vorliegen, falls 1. das Verhältnis zwischen oogoniale und meiotischem Faktorenaustausch verschoben wird; oder 2. eine Änderung der mittleren Internodienlänge, d. h. eine Änderung der Interferenz, eintritt. Die erste Möglichkeit ist hier auszuschalten, da eine Durchsicht des vorliegenden Materials von *D. pseudoobscura* keine Anzeichen für eine Steigerung des oogonalen Faktorenaustausches erbringt. Die zweite Möglichkeit erscheint unwahrscheinlich, da keine Änderung der C-Werte parallel mit dem Anstieg der Austauschwerte zu beobachten ist. Eine Ausnahme stellt der III. Passagenwert dar. Bei einer 12—15 Tage alten Mutter sind doppelte Austauschvorgänge verhältnismäßig häufiger als einfache.

Das Gesamtergebnis läßt den Schluß zu, daß in der Spindelfaserregion, d. h. in der Heterochromatin enthaltenden Region mit dem steigenden Mutteralter häufiger Chiasmata angelegt werden. Nur bei einer 12—15 Tage alten Mutter ändert sich die mittlere Internodienlänge. Diese Zunahme zeigt sich sowohl in den Rekombinationswerten des linken wie auch in denen des rechten Schenkels. Die mittlere Internodienlänge ist aber in beiden Chromosomenschenkeln verschieden: positive Interferenz im rechten, keine Interferenz im linken Schenkel. Diese angeschnittenen Fragen werden an geeigneterem Material weiter untersucht¹.

Zusammenfassung.

1. Sowohl in den *A-♀♀* wie in den *A/B-Bastard-♀♀* von *D. pseudoobscura* steigt der Gesamtfaktorenaustausch mit dem Mutteralter an.

2. Nur die Spindelfaserregion (*m-se*), die die ungleichlangen Heterochromatinabschnitte zu beiden Seiten der Spindelfaseransatzstelle umfaßt, zeigt einen statistisch gesicherten Anstieg der Rekombinationsprozente mit dem Mutteralter. In den beiden angrenzenden distalwärts liegenden Regionen (1, *bd-m*; 3, *se-sp*) besteht eine solche Abhängigkeit nicht.

3. Mit Ausnahme des III. Passagenwertes (12—15 Tage alte *♀♀*) tritt keine Änderung der Interferenz mit dem Mutteralter ein.

4. Die beiden Chromosomenschenkel verhalten sich verschieden insofern, als im linken, dem *X-D. melanogaster* homologen Schenkel keine, im rechten, dem III-L-Autosom von *D. melanogaster* homologen Schenkel eine positive Interferenz vorliegt.

5. Die positive Korrelation zwischen Mutteralter und Rekombinationshäufigkeit in der Spindelfaserregion könnte durch eine in ihrem Wesen unbekannte, erhöhte Empfindlichkeit des Heterochromatins gegenüber Umweltseinflüssen bedingt sein.

Literatur.

(Nichtangeführte Literatur bei W. Ludwig.)

Bridges, C. B.: A linkage variation in *Drosophila*. J. of exper. zool. 19, 1—12 (1915). — Ludwig, W.: Faktorenkoppelung und Faktorenaustausch bei normalem und aberrantem Chromosomenbestand. Leipzig 1938. — Reek, B.: Untersuchungen über Faktorenaustausch am X-Chromosom von *Drosophila melanogaster*. Z. Abstammungslehre 72, 138—250 (1936).

¹ Nach Abschluß dieser Arbeit erschien diejenige von Mather über: „Crossing-over and heterochromatin in the X-chromosome of *Drosophila melanogaster*“. Genetics 24, 413—435 (1939). Er folgert auf Grund seiner Versuche: Die „variable frequency is a property solely of the heterochromatin“. Seine in der Methode und statistischen Auswertung schlüssigen Experimente, durch erhöhte Temperatureinwirkung den Faktorenaustausch zu beeinflussen, beweisen, daß auf Temperatureinwirkungen nur heterochromatische Chromosomenabschnitte reagieren.

